

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE FARMACOTECNIA Y
ADMINISTRACIÓN FARMACÉUTICO**

**Estudio de equivalencia in vitro de ciclosporina en
cápsulas de gelatina blanda empleadas en el HNERM**

TESIS

para optar al título profesional de Químico Farmacéutico

AUTORES

Russbelt Jesús Aliaga Veli

Tania Pozo Albornoz

ASESOR

Mirtha Roque Alcarraz

Lima – Perú

2010

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedicamos con mucho cariño a nuestros padres por todo el apoyo recibido a lo largo de nuestra formación profesional, y a todas aquellas personas que hicieron posible la realización de este proyecto.

Asimismo lo dedicamos de forma muy especial a los pacientes que requieren el medicamento ciclosporina y esperamos poder contribuir a que exista mayor información para una mejor elección en la terapia a implementar.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo de investigación fue realizado bajo la supervisión de la Mg. Mirtha Roque Alcarraz, Jefe del Centro de Control Analítico (CCA) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM y del Q.F. Mario Viñas Véliz, Jefe del Departamento de Farmacia del Hospital Nacional Edgardo Rebagliatti Martins (HNERM), a quienes nos gustaría expresar nuestro más profundo agradecimiento, por hacer posible la realización de ésta tesis. Además, de agradecer su paciencia, tiempo y dedicación para que esto saliera de manera exitosa.

Asimismo, agradecemos a la Q.F. Sara Huamán, y al Dr. Miguel Grande Ortiz, Jefe de Control de Calidad del Instituto Nacional de Salud (INS), por su orientación y atención a nuestras consultas y por las sugerencias recibidas. Finalmente agradecemos a los Dres. Miembros del Jurado, por la revisión cuidadosa que ha realizado de este texto y por sus valiosos aportes en la realización del mismo.

A todos, muchas gracias por su apoyo, y por ser parte de la columna vertebral de esta tesis.

INDICE

	Páginas
ABREVIATURAS	5
RESUMEN	6
SUMMARY	7
I. INTRODUCCIÓN	8
1.1 Hipótesis	9
1.2 Objetivo General	9
1.3 Objetivos Específicos	9
II. GENERALIDADES	11
2.1 Equivalencia In Vitro	11
2.2 Ciclosporina	13
2.3 Ciclosporina: Clasificación Biofarmacéutica	13
2.4 Ciclosporina: Mejoramiento de su Biodisponibilidad	15
2.5 Ciclosporina: Estudios de Bioequivalencia	16
III. PARTE EXPERIMENTAL	18
3.1 Equipos	18
3.2 Materiales	18
3.3 Estándares y Reactivos	19
3.4 Verificación del Disolutor	20
3.5 Determinación de la Variación de Peso	20
3.6 Selección del Filtro	20
3.7 Curva de Calibración	20
3.8 Desarrollo de los Perfiles de Disolución	21
3.8.1 Preparación de los Medios de Disolución	22
3.8.1.1 Medio I – Solución Buffer de Ácido Clorhídrico	22
3.8.1.2 Medio II – Solución Buffer de Acetato	23
3.8.1.3 Medio III – Solución Buffer Fosfato	24
3.9 Comparación de los Perfiles de Disolución	24

IV.	RESULTADOS	26
V.	DISCUSIÓN	41
VI.	CONCLUSIONES	43
VII.	RECOMENDACIONES	44
VIII.	GLOSARIO	45
IX.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
X.	ANEXOS	52

ABREVIATURAS

AUC	: Área Bajo la Curva (AUC, por sus siglas en inglés).
BCS	: Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS, por sus siglas en inglés).
CDER	: Centro para Investigación y Evaluación de Fármacos de los Estados Unidos (CDER, por sus siglas en inglés).
EMA	: Agencia Europea de Medicamentos (EMA, por sus siglas en inglés)
FDA	: Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos (FDA; por sus siglas en inglés).
INN	: Denominación Común Internacional (INN, por sus siglas en inglés)
OMS	: Organización Mundial de la Salud
PVDF	: Polivinilidenofluoruro

RESUMEN

En el presente estudio se evaluó la equivalencia in Vitro entre dos formulaciones que contienen el principio activo ciclosporina, Sandimmun Neoral® (producto de referencia) y Supramunn® (producto en estudio), mediante la comparación de los perfiles de disolución a tres pHs diferentes (1.2; 4.5 y 6.8), tomando como referencia la metodología establecida en la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 32), así como los parámetros establecidos por la FDA (Food and Drug Administration), OMS (Organización Mundial de la Salud) y EMA (European Medicine Agency),

Los resultados obtenidos muestran una diferencia significativa en los porcentajes de disolución de las dos formulaciones de ciclosporina, lo cual evidencia que el producto de referencia y el producto en estudio tienen un comportamiento físico-químico diferente que puede deberse a cambios en la formulación y la solubilidad del producto.

Finalmente, se concluye que el producto de referencia y el producto en estudio, no presentan una equivalencia in Vitro, lo que podría significar también un comportamiento in vivo diferente. Sin embargo, es necesaria la realización de un estudio de bioequivalencia y la determinación de la correlación in Vivo – in Vitro a fin de establecer el grado de intercambiabilidad entre ambos productos.

Palabras Clave: ciclosporina; equivalencia in Vitro; perfil de disolución, bioequivalencia, intercambiabilidad

SUMMARY

In the current study, the in vitro equivalence of two formulations that contain the active ingredient cyclosporine, Sandimmun Neoral[®] (reference product) and Supramunn[®] (test product), was evaluated through the comparison of the dissolution profiles at three different pHs (1.2; 4.5 and 6.8) taking the United States Pharmacopoeia (USP 32) established methodology as reference as well as the parameters from the FDA (Food and Drug Administration), WHO (World Health Organization) and EMA (European Medicine Agency).

The obtained results show a significant difference in the dissolution percentages of the two cyclosporine formulations, which proves that the reference product and the test product have a different chemo-physical behavior that could be due to changes in the formulation and solubility of the product.

Finally, the conclusion is that the reference product and the test product do not have an in vitro equivalence which could imply a different in vivo behavior as well. However, it is necessary to perform a bioequivalence study and to determine the in vivo – in vitro correlation hence to establish the degree of interchangeability among both products.

Key words: cyclosporine, in vitro equivalence, dissolution profile, bioequivalence, interchangeability.

I. INTRODUCCIÓN

La ciclosporina (también denominada Ciclosporina A) es un agente inmunosupresor ampliamente usado en el transplante de órganos y más recientemente en enfermedades autoinmunes que ha salvado incontables vidas desde su introducción al mercado en la década de los ochenta. La absorción y el metabolismo de ciclosporina son parámetros altamente variables de paciente a paciente. Después de su administración oral, la eliminación es principalmente biliar y solo el 6 % de la dosis se excreta por la orina. Su tiempo de vida media está en el rango de 5 a 18 horas ⁽¹⁾.

Debido a la alta lipofiliidad de este fármaco, las formulaciones orales iniciales se basaron en soluciones oleosas comercializadas en cápsulas de gelatina blanda (Sandimmun[®]). Alternativamente, y debido a la alta variabilidad farmacocinética tanto a nivel interindividual como intraindividual se desarrolló una nueva formulación para incorporar ciclosporina en una microemulsión preconcentrada que contiene un surfactante y solventes lipofílicos e hidrofílicos (Sandimmun Neoral[®]) ⁽¹⁾. Estudios preliminares como el realizado por Pérez J. et al, sugirieron una mejora en la biodisponibilidad y menor variabilidad en la farmacocinética de ciclosporina con esta nueva formulación ⁽²⁸⁾. Para estos casos, en los que el cambio de formulación tipo nivel 2 o 3 pueden tener un impacto en la calidad y rendimiento de la formulación, la Normativa Americana, a través del Centro de Investigación y Evaluación de Fármacos - CDER (Center for Drug Evaluation and Research) de los Estados Unidos, establece que deben documentarse perfiles de disolución a fin de garantizar la calidad del producto farmacéutico ^{(2) (3)}.

Asimismo, tras la aparición de nuevas marcas de ciclosporina en el mercado, entre ellas el producto en estudio, y debido al estrecho margen terapéutico del principio activo, surge la necesidad de establecer parámetros comparativos con el producto de referencia, que permita determinar el grado de intercambiabilidad, calidad, seguridad y eficacia de los medicamentos comercializados.

Actualmente en nuestro país la Ley N° 29316: “Ley que modifica, incorpora y regula diversas disposiciones a fin de implementar el acuerdo de promoción comercial suscrito entre el Perú y los Estados Unidos de América”⁽⁴⁾, en la que se sustituye el artículo 50 de la Ley General de Salud, publicado el 14 de Enero del 2009 y el Decreto Supremo N° 001-2009-SA: “Reglamento del Artículo 50 de la Ley N° 26842, Ley

General de Salud”⁽⁵⁾, publicado el 17 de Enero del 2009, establecen la clasificación de los fármacos en tres categorías y menciona como requisito indispensable para la obtención de un registro sanitario el desarrollo de estudios de equivalencia según lo establecido por la Autoridad de Salud ⁽⁶⁾.

Un estudio de equivalencia es una prueba comparativa entre el producto en estudio y el producto de referencia usando enfoques in Vitro e in Vivo. El enfoque in Vitro conocido como “estudio de equivalencia in Vitro” se basa en la comparación de perfiles de disolución a tres pHs diferentes (1.2; 4.5 y 6.8) ⁽⁷⁾.

Las similitudes y/o diferencias encontradas en la comparación de perfiles de disolución, pueden ser predictores del comportamiento in vivo del fármaco para medicamentos del grupo II de la Clasificación Biofarmacéutica (en la que se encuentra la ciclosporina), ya que la cinética de absorción esta limitada por la disolución y un pequeño cambio en la absorción sistémica puede dar como resultado marcados cambios en el comportamiento farmacocinético y la respuesta farmacodinámica ⁽⁸⁾.

Es por ello que en este estudio deseamos demostrar la equivalencia in vitro entre dos marcas diferentes de ciclosporina, mediante la evaluación de los perfiles de disolución, el mismo que se justifica por el proceso de solubilización de las cápsulas de ciclosporina microemulsión ^{(9) (10)}.

1.1 Hipótesis

LAS FORMULACIONES DEL PRODUCTO DE REFERENCIA Y DEL PRODUCTO EN ESTUDIO NO PRESENTAN EQUIVALENCIA *IN VITRO*.

1.2 Objetivo General

- a. Determinar la equivalencia in Vitro de dos formulaciones que contienen el principio activo ciclosporina.

1.3 Objetivos Específicos

- a. Determinar los perfiles de disolución del producto de referencia y del producto en estudio.

- b. Establecer las diferencias de los perfiles de disolución del producto de referencia y el producto en estudio.
- c. Determinar la posible intercambiabilidad de las dos formulaciones empleadas en el presente estudio.

II. GENERALIDADES

2.1 EQUIVALENCIA IN VITRO

Dentro del proceso de liberación de un fármaco, la disolución es una de las propiedades más importantes que decide la absorción y la biodisponibilidad de las formulaciones sólidas y se define como: el proceso mediante el cual los sólidos de la formulación se convierten en partículas muy finas que se dispersan homogéneamente en forma de solución para luego absorberse ⁽¹¹⁾.

El estudio de equivalencia in Vitro, es un ensayo de carácter fisicoquímico basado en la comparación de los perfiles de disolución entre el producto en estudio y el producto de referencia, en tres medios diferentes: pH 1,2; pH 4,5 y pH 6,8, el cual se fundamenta en los diferentes pH del tracto gastrointestinal: estómago (pH 1-3.5), duodeno (pH 5-7), ileon (pH 8) ^{(7) (12)}.

Según la literatura, la **equivalencia in vitro** es un tipo de estudio para demostrar **Bioequivalencia** basado en la Clasificación Biofarmacéutica (bioexención), sustentado en una correlación *in vivo-in vitro*, sin embargo en algunos países consideran la **equivalencia in-vitro** como ensayo previo a otros estudios, tal es el caso de Argentina el cual mediante su DISPOSICION A.N.M.A.T. N° 1746 ANEXO I, PUNTO 4, INCISO 4.42.2 de producto similar, manifiesta que al presentar un protocolo de análisis de bioequivalencia, debe presentarse evidencia de la potencia y características de disolución de producto en estudio y del producto de referencia. Además se recomienda previamente a efectuar el estudio in-vivo, realizar estudios de los perfiles de disolución (f1 y f2) de los productos test (T) y referencia (R) ⁽¹³⁾.

En México a través de la Normativa 177-SSA1-1998, se establece como acuerdo para clasificar un medicamento como intercambiable, que debe cumplir con buenas prácticas de manufactura, **requiere estudio de disolución**, y requiere estudio de bioequivalencia ^{(14) (15)}.

Asimismo, la Organización Panamericana de la Salud, realizó un estudio comparativo de los requerimientos de estudios de bioequivalencia (estudios farmacocinéticos *in vivo* en seres humanos), entre EEUU, Canadá y 7 países latinoamericanos, con información disponible al mes de Julio del 2006. Además se analizó la situación en Argentina, Brasil, Chile, Costa Rica, Cuba, México y Venezuela. De los 98 principios

activos analizados, solamente 5 de ellos requieren estudios de bioequivalencia en los 9 países estudiados (ácido valproico, carbamazepina, **ciclosporina**, fenitoína y verapamilo), siendo relevante para este grupo de fármacos realizar estudios de equivalencia *in vitro* e *in vivo*, para demostrar intercambiabilidad ⁽¹⁴⁾ ⁽¹⁵⁾.

Hasta el año 2009 en nuestro país, el artículo 50 de la **Ley General de Salud** (1997), generaba la concesión de registro sanitario de manera automática, es decir sin la acreditación de calidad ni equivalencia entre los productos farmacéuticos, pero en Enero del 2009 se aprueba la modificatoria del artículo 50 con la Ley N° 29316: “Ley que modifica, incorpora y regula diversas disposiciones a fin de implementar el acuerdo de promoción comercial suscrito entre el Perú y los Estados Unidos de América” publicado el 14 de Enero del 2009 y el Decreto Supremo N° 001-2009-SA: “Reglamento del Artículo 50 de la Ley N° 26842, Ley General de Salud” publicado el 29 de Enero del 2009, los mismos que clasifican a los fármacos en tres categorías y establecen como requisito indispensable para la obtención de registro sanitario el desarrollo de estudios de equivalencia según el reglamento correspondiente, con la finalidad de asegurar la eficacia, seguridad y calidad de los medicamentos que se comercializan en el país ⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾.

Según la **Ley N° 29459, “Ley de productos farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios”** aprobado en Noviembre del 2009, el artículo 10 especifica que:

”Para la obtención del Registro Sanitario, se requieren los estudios de intercambiabilidad, en las condiciones y prioridades que establece el Reglamento respectivo, de acuerdo a lo recomendado por la OMS. Solamente son exigibles estudios de bioequivalencia *in vivo* a los productos de riesgo sanitario alto y considerando las excepciones de acuerdo a la clasificación Biofarmacéutica, atendiendo al principio de gradualidad” ⁽¹⁶⁾ ⁽¹⁷⁾.

2.2 CICLOSPORINA

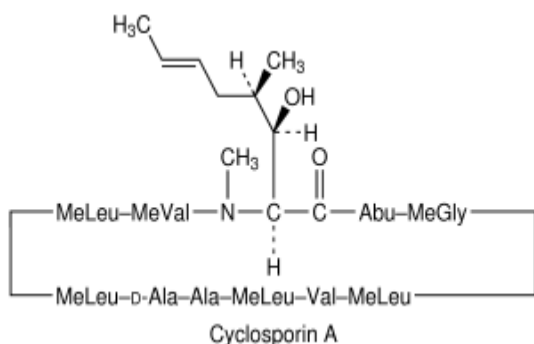
Sinónimos: 27-400; Ciclosporina; **Ciclosporinum**; Ciklosporin; Ciklosporinas; **Cyclosporin**; **Cyclosporin A**; Cyklosporin; **OL-27-400**; Siklosporiini.

INN: *Ciclosporina*

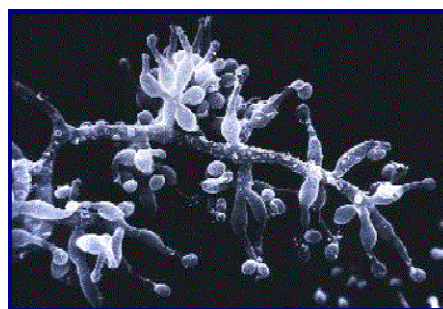
Fórmula y peso molecular: $C_{62}H_{111}N_{11}O_{12} = 1202.6$

Código ATC: L04AA01⁽¹⁸⁾

Es un agente inmunosupresor producido por el hongo *Tolypocladium inflatum* Gams descubierto el 31 de enero de 1972, por la empresa farmacéutica Sandoz (ahora Novartis) en Basel, Suiza, el cual es un péptido cíclico compuesto por 11 aminoácidos, considerado como medicamento de riesgo sanitario alto, por presentar estrecho margen terapéutico⁽¹⁹⁾.



Estructura química de Ciclosporina



Microfotografía electrónica de *Tolypocladium inflatum*

La ciclosporina ha revolucionado la posibilidad de los trasplantes, aumentando la supervivencia del trasplante, reduciendo la hospitalización y reduciendo la morbilidad del paciente.

2.3 CICLOSPORINA: CLASIFICACIÓN BIOFARMACÉUTICA

Desde Marzo del 2005, la ciclosporina se encuentra ubicada en la Tabla 2 de la Lista Complementaria de ingredientes activos de la OMS (Model List of Essential Medicines - EML)⁽⁷⁾⁽²⁰⁾.

Adicionalmente, según el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica propuesta por el profesor Gordon Amidon de la Universidad de Michigan⁽²¹⁾, se clasifica a la ciclosporina dentro de la **clase II**, sustentado en algunos estudios que él realizó para

evaluar la permeabilidad de ciclosporina en humanos y si la formulación (microemulsión) modula los efectos de glicoproteína-P en la permeabilidad de ciclosporina en células tipo Caco-2; concluyendo que la influencia de los surfactantes en solubilización vía micelar e inhibición del eflujo de glicoproteína-P en las células tipo Caco-2 es significativa. Por lo que Ciclosporina puede ser clasificado en la **clase II** de la clasificación Biofarmacéutica, por su propiedad de **alta permeabilidad y baja solubilidad**; y además la alta variabilidad de absorción de ciclosporina solución oleosa, es el resultado de su pobre disolución.

Asimismo para un fármaco de baja solubilidad y alta permeabilidad (clase II), la solubilidad y la disolución son los pasos limitantes, por ello la correlación in vivo e in vitro dependerá de la clase de fármaco, de lo que se concluye que la posibilidad de correlación in vivo in vitro será si la velocidad de disolución in vitro es similar a la velocidad de disolución in vivo ^{(3) (9) (22)}.

La Clasificación Biofarmacéutica de la Ciclosporina es aceptada en varios países como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 1: Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS) para ciclosporina ⁽²¹⁾

País	Dosis mínima (mg)	Dosis máxima (mg)	Solubilidad	BCS Clase (cLogP)	BCS Clase (logP)
Japón	10	50	Baja	N/A	Clase II
Reino Unido	10	100	Baja	N/A	Clase II
Korea	25	100	Baja	N/A	Clase II
Estados Unidos	25	100	Baja	N/A	Clase II
España	25	100	Baja	N/A	Clase II

La OMS, ha propuesto extender la bioexención de estudios de bioequivalencia *in vivo* a los productos de **clase II**, si el producto en estudio se disuelve rápidamente (85% o más a pH 6.8 en 30 minutos o menos) y si el perfil de disolución es similar al del producto de referencia a pH 1.2; 4.5; 6.8; pero según la literatura los fármacos que presentan estrecho margen terapéutico (por ejemplo ciclosporina) no pueden ser bioexenciones para los estudios de bioequivalencia *in vivo*, lo que quiere decir que necesariamente aparte de un estudio de equivalencia in vitro se debe realizar un estudio in vivo de este principio activo para demostrar intercambiabilidad ^{(7) (23)}.

2.4 CICLOSPORINA: MEJORAMIENTO DE SU BIODISPONIBILIDAD

Según los antecedentes, existen dos tipos de formulaciones de ciclosporina por vía oral, solución oleosa y microemulsión, la ciclosporina microemulsión (mezcla isotrópica de aceite, surfactantes, solventes y co-solventes o también conocido como Self-emulsifying drug delivery systems-SEDDS) es una formulación modificada a partir de ciclosporina oleosa y diferente desde el punto de vista farmacocinético, es decir no son bioequivalentes ^{(24) (25)}.

La absorción de ciclosporina solución oleosa es limitada debido al: área relativamente pequeña del intestino delgado, metabolismo que puede ocurrir en la luz intestinal, capacidad de las enzimas pancreáticas y los ácidos biliares para dispersar el fármaco, así como los efectos variables de los alimentos. Por estas razones, tanto las concentraciones plasmáticas máximas como los tiempos necesarios para alcanzarlas varían mucho entre pacientes e incluso en un mismo paciente bajo distintas circunstancias ⁽²⁶⁾.

La información disponible indica que después del cambio de ciclosporina solución oleosa a ciclosporina microemulsión en una proporción de 1:1, se obtienen concentraciones mínimas de ciclosporina comparables en la sangre total. No obstante, en muchos pacientes pueden registrarse concentraciones máximas (C_{max}) más altas y una mayor exposición al medicamento (AUC). Su magnitud depende en gran medida a la varianza individual de absorción de ciclosporina microemulsión respecto a ciclosporina solución oleosa, cuya biodisponibilidad es extremadamente variable ⁽²⁶⁾.

Los pacientes con concentraciones mínimas variables o tratados con dosis muy altas de ciclosporina solución oleosa pueden absorber mal o de manera irregular este principio activo (por ej. pacientes con fibrosis quística, trasplante de hígado con colestasis o mala secreción biliar, niños o algunos pacientes con trasplante renal); pero al cambiar a ciclosporina microemulsión, pueden empezar a absorber normalmente el medicamento ⁽²⁶⁾.

Con ciclosporina microemulsión, la absorción es menos variable y la correlación entre las concentraciones mínimas de ciclosporina y la exposición (AUC) es mucho más estrecha que con ciclosporina solución oleosa, lo que se demuestra con el trabajo realizado por Belitsky et al., quien encuentra que el dosaje más óptimo y con mejores

resultados, puede ser alcanzado con ciclosporina microemulsión que con ciclosporina solución oleosa, lo que también indica que las diferentes formulaciones de un mismo principio activo, tienen diferentes propiedades. Por tanto, las concentraciones sanguíneas mínimas de ciclosporina constituyen un parámetro más robusto y fiable para la supervisión del tratamiento. A la vez, como el cambio de ciclosporina solución oleosa a ciclosporina microemulsión puede implicar una mayor exposición se debe seguir un estricto dosaje del medicamento, y la dosis debe ser ajustada individualmente más aún por tratarse de un fármaco de estrecho margen terapéutico⁽²⁶⁾⁽²⁷⁾.

2.5 CICLOSPORINA: ESTUDIOS DE BIOEQUIVALENCIA

Pérez J. et al, realizaron un meta-análisis cuantitativo donde evalúan la bioequivalencia e intercambio terapéutico de ciclosporina en trasplante renal. Seleccionaron entre 1992 y 1999, 6 ensayos clínicos con un diseño en cuadrado latino no replicado y 4 ensayos clínicos con un diseño secuencial. La bioequivalencia de ciclosporina microemulsión frente a ciclosporina solución oleosa es, en promedio, 1.327 (IC 90% 1.311 a 1.344) para la transformación logarítmica del área bajo la curva, 1.663 (IC 90%: 1.635 a 1.692) para la concentración máxima (C_{max}) y 0.559 horas (IC 90% 0.544 a 0.574 horas) para el tiempo máximo (T_{max}). Para estos tres indicadores farmacocinéticos existían diferencias estadísticamente significativas. La bioequivalencia relativa, cuantificada con la transformación logarítmica del área bajo la curva y la concentración máxima, disminuye significativamente con el tiempo post-trasplante.

El estudio anteriormente señalado concluye que la ciclosporina solución oleosa y ciclosporina microemulsión no son bioequivalentes⁽²⁸⁾.

Kovarik et al, realizaron un estudio randomizado, abierto para comparar la bioequivalencia de cápsulas de gelatina blanda y solución oral de ciclosporina microemulsión en 24 varones voluntarios sanos, se administraron tres tratamientos; una cápsula blanda de Ciclosporina, una solución oral en ayunas y la solución oral mezclada con jugo de naranja, se obtuvieron muestras de sangre venosa después de 48 horas de la administración para medir la ciclosporina en sangre por radio-inmunoensayo monoclonal específico. Para los tres tratamientos, la media de la C_{max} en sangre fue de aproximadamente 1100 ng/mL se llegó a cerca de 1.3 horas (t_{max}) después de la administración y el área bajo la curva AUC fue de 4700 ng.hr/mL.

(Según Kovarik) se concluye que las dos formas de dosificación oral de ciclosporina microemulsión se pueden intercambiar sin necesidad de ajuste de dosis ⁽²⁹⁾.

Avramoff A. et al realizaron un estudio de equivalencia *in vitro* entre dos formulaciones de ciclosporina, ambas microemulsión, Deximune[®] y Sandimmun Neoral[®] en cápsulas de gelatina blanda, dando como resultado que ambas formulaciones, tanto la formulación de estudio (Deximune[®]) como el innovador (Sandimmun Neoral[®]) exhibieron similares perfiles de disolución. Ambas formulaciones mostraron un índice de rápida liberación, con más del 90% de la droga liberada y disuelta dentro de un tiempo de 15 minutos ⁽¹⁾.

III. PARTE EXPERIMENTAL

Para la parte experimental del estudio, se ha tomado en cuenta recomendaciones de CDER-FDA ⁽²⁾⁽³⁰⁾, Organización Mundial de la Salud⁽⁷⁾ y la Directiva para establecer equivalencia terapéutica de Medicamentos-Perú ⁽⁶⁾.

Por otro lado la técnica analítica a aplicar en el presente trabajo es la que se describe en la USP 32 NF27, ⁽³¹⁾ tanto para la disolución y cuantificación del principio activo.

3.1 EQUIPOS

Disolutor	: Marca HANSON RESEARCH, modelo RP8 Plus, equipo integrado para 8 vasos.
Equipo HPLC	: Marca Agilent Technologies, modelo 1200 Series Quaternary LC system equipado con columna tipo L1 de 4.6 mm de diámetro y 25 cm de largo. Marca Perkin Elmer, modelo PE Nelson 900 series interfase 785A con detector UV visible y bomba series 200 pump con software total chromNavigator HPLC, equipado con columna tipo L1 de 4.6 mm y 25 cm de largo.
Medidor de pH	: Modelo SA720.
Balanza Analítica	: Marca MR-317, con capacidad de respuesta en unidad de millar.

3.2 MATERIALES

Filtros de jeringa no estériles de 33 mm durapore de PVDF marca Pall.

Viales para HPLC, marca Agilent Technologies.

Fiolas de 5, 25, 100, 500 y 1000 mL

Matraces de 100, 500 y 1000 mL

Pipetas de 5 y 10 mL.

Viales de 10 mL color ámbar.

Jeringas de 5 y 10 mL

Papel adsorbente.

Vernier, Clips, Papel de aluminio.

3.3 ESTÁNDARES Y REACTIVOS

Producto de Referencia	: Sandimmun Neoral [®] 50 mg - Cápsulas de Gelatina Blanda. Lote: S0099
Producto de Estudio	: Supramunn [®] 50 mg - Cápsulas de Gelatina Blanda. Lote: 4T802001
Estándar primario	: Ciclosporina A, lote 058K4109, expira mayo 2010, Sigma Aldrich.
Estándar secundario	: <i>Ciclosporina</i> código 3142056, código de manufactura 1284, expira junio 2010, Sigma Aldrich.
Acetonitrilo	: Grado HPLC Catálogo N° 9017, JT Baker. Grado HPLC Catálogo N° 1.00030.4000, Merck.
Agua	: Grado HPLC. Catálogo N° 4218, JT Baker.
Metanol	: Grado HPLC Catálogo N° 9070, JT Baker.
Solución de Ácido Clorhídrico	: Concentrado al 37% p/v, densidad 1.19 g / mL, Merck.
Acetato de Sodio	: Grado analítico, Merck.
Acido Acético Glacial	: Grado analítico, Merck.
Fosfato Monobásico Potásico	: Grado analítico, Merck
Solución de Hidróxido de Potasio	: Solución al 0.1N o 1N cantidad suficiente para ajustar el pH.
Solución de Ácido Fosfórico	: Grado analítico, preparado en el laboratorio.

3.4 VERIFICACIÓN DEL DISOLUTOR

Principio

Se verifica las variables involucradas en el equipo de disolución.

- a) Inspección visual general del equipo: limpieza, detección de grietas, roturas, etc.
- b) Geometría del equipo.
- c) Nivel del baño.
- d) Verificación del centrado de los vasos
- e) Verificación de la altura de las paletas o canastillas
- f) Verificación del sistema de muestreo (limpio y uniforme en todos los vasos)
- g) Verificación de la temperatura del medio de disolución (todos)

3.5 DETERMINACION DE LA VARIACION DE PESO.

Principio:

Garantizar la concentración de la dosis, donde cada unidad de un lote debe tener un contenido de principio activo dentro de un rango estrecho.

El término se define como el grado de uniformidad en la cantidad de la sustancia activa entre las unidades de dosificación.

3.6 SELECCIÓN DEL FILTRO

El filtro de jeringa empleado para el desarrollo de los perfiles de disolución son filtros Millipore no estériles de 33 mm con material de filtro de PVDF, los cuales fueron seleccionados en base al estudio, *“Evaluation of Drug Adsorption to Membrane filter under Biowaiver Test Conditions” K. Kiehman, J. Dressman* ⁽³²⁾.

3.7 CURVA DE CALIBRACIÓN

Principio

Tiene como principio hallar la linealidad entre la detección y la concentración teórica, basada en una relación lineal determinada por un coeficiente de correlación (r).

La curva de calibración se determinó usando estándar primario (leído por quintuplicado) y estándares secundarios (leídos por triplicado).

Estándar primario

Potencia: 98.1%

Solución de enrase: Solución de agua/acetonitrilo (50:50).

Fórmula:

$$\text{Concentración final} = W_{\text{est}} \times \text{factor de dilución} \times \text{potencia del estándar}$$

W_{est} = Peso del estándar

Ejemplo: *Concentración 1:*

$$\frac{3.8 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} \times \frac{5 \text{ mL}}{15 \text{ mL}} \times \frac{98.1}{100} = 0.0298224 \text{ mg / mL}$$

3.8 DESARROLLO DE LOS PERFILES DE DISOLUCIÓN

Principio:

El método analítico de disolución y de cuantificación está acorde con el que se describe en la USP 32 NF 27 ⁽³¹⁾.

Aparato : Aparato 2 de la USP (paletas rotativas), 75 rpm.

Cromatografía

Columna : Fase reversa RPC18-Octadecil silano (L1), químicamente unido a poros de sílica o macropartículas de 3 -10 µm de diámetro de 4.6 mm de diámetro y 25 cm de largo.

Temperatura : 60° C.

Fase Móvil : Acetonitrilo: agua: metanol: ácido fosfórico (900:450:50:0.5)

Tasa de flujo : 2 mL/min.

Sistema : Isocrático.

Volumen Inyectado : 10 µl

Detección : 210 nm.

Condiciones : Las condiciones experimentales fueron idénticas tanto para el producto en estudio como para el producto de referencia. .

Cantidad de Unidades	: Se realizan los perfiles en 12 unidades posológicas como mínimo, de un mismo lote de fabricación, tanto del producto en Estudio como del producto de Referencia.
Tiempos de toma de muestras	: Se recolecta muestras en tres tiempos (15 min, 30 min, 45 min) para caracterizar el perfil de disolución del producto farmacéutico, sin considerar el tiempo cero. En ambos productos, una vez obtenido el 85% disuelto, será suficiente un punto de muestreo adicional.
Temperatura	: Los ensayos de disolución se realizan a $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ programado en el equipo.

3.8.1 Preparación de los Medios de Disolución

La preparación de los medios de disolución está basada en la USP 32 ⁽³¹⁾.

3.8.1.1 Medio I - Solución Buffer de Ácido Clorhídrico (pH 1.2)

A. Preparación de solución de Ácido clorhídrico 0.2 N

A partir de una solución de ácido clorhídrico concentrado (HCl), de densidad 1.19 al 37% p/v.

$$\frac{\text{Eq g HCl}}{\text{N}^{\circ} \text{H}^{+}} = \frac{\text{PM}}{1} = \frac{36.4}{1} = 36.4 \text{ g } (\approx 1 \text{ N})$$

Solución 0.2 N de HCl es equivalente a 7.28 g.

Considerando que 7.28 g corresponde a ácido clorhídrico 100% puro la masa de ácido clorhídrico al 37% se obtiene de la manera siguiente:

$$\begin{aligned} \text{g de HCl al 37\%} &= \frac{\text{g de HCl}}{\%} \times 100 = \frac{7.28 \text{ g}}{37\%} \times 100\% \\ \text{g de HCl} &= 19.67 \text{ g} \end{aligned}$$

Puesto que el ácido es un líquido, en lugar de pesar la masa calculada se mide el volumen de ácido que contendrá los gramos de HCl arriba calculados de manera que se dividiera la masa entre la densidad del ácido.

$$\text{mL de HCl concentrado} = \frac{\text{g de HCl}}{d} = \frac{19.67 \text{ g}}{1.19 \text{ g / mL}}$$

Cantidad necesaria de HCl concentrado es 16.52 mL para preparar 1 litro de ácido clorhídrico 0.2N.

B. Preparación de una solución Cloruro de Potasio (KCl) de 0.2 M

Disolver 14.91 g de cloruro de potasio en agua y diluir con agua hasta 1000 mL.

C. Solución de Ácido Clorhídrico pH 1.2

Colocar 50 mL de la solución de KCl 0.2 M en un matraz de 200 mL, agregar 85 mL de la solución de HCl 0.2 N y completar a volumen. Medir el pH de la solución resultante.

Volumen de medio de Disolución requerido:

13 Litros (5.525 L de Ácido clorhídrico 0.2 N y 3.250 L de Cloruro de Potasio 0.2M)

3.8.1.2 Medio II - Solución Buffer Acetato (pH 4.5)

A. Preparación de la solución de Ácido Acético (2N)

Agregar 116 mL de ácido acético glacial a una cantidad suficiente de agua para obtener 1000 mL después de enfriar a temperatura ambiente.

B. Preparación de la solución Buffer Acetato (1 L)

Pesar 2.99 g de acetato de sodio y colocar en un matraz de 1000 mL, agregar 14 mL de solución de ácido acético 2N recientemente preparada, agregar agua y llevar a un volumen

Volumen de medio de Disolución requerido:

13 Litros (182 mL de solución de ácido acético 2 N y 38.87 g de acetato de sodio).

3.8.1.3 Medio III - Solución Buffer Fosfato (pH 6.8)

A. Preparación de solución de Fosfato Monobásico de Potasio (0.2M):

Disolver 27.22 g de fosfato monobásico de potasio (KH_2PO_4) en agua y diluir con agua hasta 1000 mL.

B. Preparación de la solución Buffer Fosfato (200 mL):

Colocar 50 mL de una solución de fosfato monobásico en un matraz de 200 mL, agregar aproximadamente 22.4 mL de una solución de hidróxido de sodio 0.2 M finalmente agregar agua a volumen (200 mL). Medir el pH de la solución.

Volumen de medio de Disolución requerido:

13 Litros (3250 mL de una solución de fosfato monobásico de potasio (0.2M) y 1456 mL de una solución de Hidróxido de Sodio 0.2M).

Cálculo del contenido de ciclosporina

$$\frac{\text{Porcentaje de disolución}}{\text{Del principio activo}} = \frac{\text{Amt} \times \text{Fst} \times \text{Fm}}{\text{Ast}}$$

Amt = Área del pico del principio activo en el cromatograma de la solución empleada para la medición.

Ast = Área del pico del principio activo en el cromatograma de la solución estándar

Fst = Factor del estándar.

Fm = Factor de la muestra.

3.9 COMPARACIÓN DE LOS PERFILES DE DISOLUCION

Se utiliza el Modelo de Enfoque Independiente utilizando un factor de similitud, propuesto por el CDER (Centro de Evaluación e Investigación de Drogas-1997-FDA), este enfoque utiliza un factor de diferencia (f1) y un factor de similitud (f2) para comparar los perfiles de disolución (Moore 1996).

El factor de diferencia (f_1) calcula la diferencia porcentual (%) entre las dos curvas en cada punto temporal y es una medida del error relativo entre las dos curvas:

$$f_1 = \{[\sum_{t=1}^n |R_t - T_t|] / [\sum_{t=1}^n R_t]\} \times 100$$

donde n es el número de puntos de muestreo, R_t es el porcentaje de disolución del producto de **referencia (R)** en el tiempo t , y T_t es el valor de disolución del producto en **estudio (E)** en el tiempo t .

El factor de similitud (f_2) es una transformación de raíz cuadrada recíproca logarítmica de la suma del error cuadrado y es una medición de la **similitud** en la disolución porcentual (%) entre las dos curvas.

$$f_2 = 50 \times \log \{[1 + (1/n) \sum_{t=1}^n (R_t - E_t)^2]^{-0.5} \times 100\}$$

Para que las curvas se consideren similares, los valores de f_1 deberán estar en el rango de (0-15), y los valores de f_2 deberán estar cerca de 100 es decir en el rango de (≥ 50 -100).

Para permitir el uso de datos medios, el coeficiente porcentual de variación en los puntos temporales más tempranos (p.ej., 15 minutos) no deberá ser más del 20%, y en otros puntos temporales no deberá ser más del 10%.

Cuando los producto de referencia como el producto en estudio, se disuelven el 85% o más de la cantidad declarada del fármaco en menos de 15 minutos usando los tres medios de disolución recomendados, no hace falta la comparación de perfiles con una prueba de $f_2^{(30)(33)(34)}$.

Para predecir la absorción de un fármaco insoluble, se debe tomar en cuenta la liberación, disolución y el grado de permeabilidad del fármaco.

IV. RESULTADOS

Tabla Nº 2. VERIFICACION DEL DISOLUTOR ⁽³⁵⁾				
Nº	FECHA	19/12/2009	26/12/2009	02/01/2010
1	Inspección visual general del equipo: limpieza, detección de grietas, roturas, etc.	Conforme	Conforme	Conforme
2	Geometría del equipo	Cumple con las condiciones para el proyecto	Cumple con las condiciones para el proyecto	Cumple con las condiciones para el proyecto
3	Nivel de baño	A 10 cm de la altura total	A 10 cm de la altura total	A 10 cm de la altura total
4	Verificar centrado de los vasos	Conforme	Conforme	Conforme
5	Verificación de la altura de las paletas o canastillas	A 2 cm del fondo del vaso	A 2 cm del fondo del vaso	A 2 cm del fondo del vaso
6	Verificación del sistema de muestreo (limpio y uniforme en todos los vasos)	Jeringas de 5 mL	Jeringas de 5 mL	Jeringas de 5 mL
7	Verificación de la temperatura del medio de disolución (todos)	37°C	37°C	37°C

TABLA Nº 3
DETERMINACION DE LA VARIACION DE PESO

(Unidad de medida: Gramos)

	Medio I pH 1.2		Medio II pH 4.5		Medio III pH 6.8	
<i>Cápsula</i>	<i>Producto de Referencia</i>	<i>Producto en Estudio</i>	<i>Producto de Referencia</i>	<i>Producto en Estudio</i>	<i>Producto de Referencia</i>	<i>Producto en Estudio</i>
1	0.8252	0.9055	0.8572	0.8915	0.8171	0.8853
2	0.8494	0.9052	0.8597	0.9104	0.8296	0.8915
3	0.8117	0.8976	0.8458	0.8910	0.8100	0.8803
4	0.8300	0.9037	0.8604	0.9059	0.7976	0.8953
5	0.8305	0.8860	0.8188	0.9113	0.8209	0.9120
6	0.8383	0.9171	0.8001	0.9077	0.8390	0.8952
7	0.8281	0.9067	0.8382	0.8675	0.8240	0.9192
8	0.8133	0.8874	0.8233	0.8850	0.8300	0.8920
9	0.8510	0.8843	0.8410	0.8930	0.8210	0.8920
10	0.8438	0.8953	0.8372	0.9013	0.8230	0.8970
11	0.8389	0.8960	0.8210	0.8920	0.8220	0.8876
12	0.8011	0.8912	0.8430	0.9035	0.8120	0.8920
\bar{X}	0.83	0.90	0.84	0.90	0.82	0.89
DS	0.015	0.010	0.018	0.013	0.011	0.011

TABLA Nº 4
RESULTADOS INDIVIDUALES DE CINÉTICAS DE DISOLUCIÓN VS TIEMPO, MEDIO HCl pH = 1.2; PRODUCTO DE REFERENCIA (R)

Muestra	Producto de Referencia (Sandimmun® Neoral)				Registro del análisis Nº	004-CCA
Fabricante	R.P. Scherer GmbH & Co. KG, Alemania – NOVARTIS				Vence	12-2010
Medio Disolución	Solución de Ácido Clorhídrico pH=1,2				Lote	S0099
Equipo Disolución	Hanson Research RP8 Plus				Método disolución	Según USP
Fecha de análisis	02/01/2010				Rpm	50
Tiempo (min)	T1 15 min		T2 30 min		T3 45 min	
Vaso	Porcentaje de disolución de ciclosporina (%)	Area bajo la curva (AUC)	Porcentaje de disolución de ciclosporina (%)	Area bajo la curva (AUC)	Porcentaje de disolución de ciclosporina (%)	Area bajo la curva (AUC)
V1	69.26679	4159.24268	73.56431	4417.29492	72.88641	4376.58936
V2	68.53507	4115.30566	72.98086	4382.26074	76.69793	4605.45850
V3	66.31278	3981.86450	82.32787	4943.51807	74.43747	4469.72510
V4	67.49305	4052.73584	73.17341	4393.82275	75.89502	4557.24609
V5	65.16964	3913.22266	71.49599	4293.09912	72.82871	4373.12451
V6	69.29551	4160.96777	70.84458	4253.98389	73.00534	4383.73047
V7	70.78299	4250.28564	74.73842	4487.79639	75.91416	4558.39551
V8	62.81776	3772.00000	68.59104	4118.66650	73.21158	4396.11475
V9	68.23805	4097.47070	74.30488	4461.76367	72.21624	4336.34766
V10	61.74531	3707.60303	73.50613	4413.80127	78.53429	4715.72559
V11	72.19228	4334.90869	73.41296	4408.20703	74.48463	4472.55713
V12	66.21274	3975.85742	71.52782	4295.01025	71.81026	4311.96973
\bar{X}	67.34	4043.46	73.37	4405.77	74.33	4463.08
DS	3.075	184.616	3.294	197.798	2.055	123.375
CV	4.57	4.57	4.49	4.49	2.76	2.76

TABLA Nº 5
RESULTADOS INDIVIDUALES DE CINÉTICAS DE DISOLUCIÓN VS TIEMPO, MEDIO HCl pH = 1.2; PRODUCTO EN ESTUDIO (E)

Muestra	Producto en Estudio (Supramunn®)				Registro del análisis Nº	005-CCA
Fabricante	Ivax Pharmaceuticals S.R.O, República Checa – MEDCO				Vence	02-2010
Medio Disolución	Solución de Ácido Clorhídrico pH=1,2				Lote	4T802001
Equipo Disolución	Hanson Research RP8 Plus				Método disolución	Según USP
Fecha de análisis	02/01/2010				Rpm	50
Tiempo (min)	T1 15 min		T2 30 min		T3 45 min	
Vaso	Porcentaje de disolución de ciclosporina (%)	Area bajo la curva (AUC)	Porcentaje de disolución de ciclosporina (%)	Area bajo la curva (AUC)	Porcentaje de disolución de ciclosporina (%)	Area bajo la curva (AUC)
V1			33.35905	2003.10132	47.44119	2848.68726
V2	10.59536	636.21674	39.68179	2382.76074	46.74981	2807.17261
V3			32.86278	1973.30212	51.00809	3062.86816
V4	14.79348	888.29956	38.85002	2332.81592	41.31561	2480.86670
V5	10.24457	615.15265	30.81461	1850.31604	44.36012	2663.67920
V6	18.13043	1088.67285	38.49172	2311.30103	50.94429	3059.03687
V7	16.24414	975.40747	32.34633	1942.29053	45.94364	2758.76465
V8	10.84563	651.24451	31.41969	1886.64893	36.28894	2179.03149
V9	13.50388	810.86359	28.36147	1703.01318	38.66358	2321.62109
V10	14.52793	872.35413	36.70738	2204.15723	37.11964	2228.91211
V11	11.23947	674.89307	30.27054	1817.64661	40.81490	2450.80078
V12	11.49516	690.24646	32.45397	1948.75391	40.72012	2445.10913
\bar{X}	13.16	790.34	33.80	2029.68	43.45	2608.88
DS	2.703	162.322	3.719	223.338	5.049	303.151
CV	20.5383308	20.53833486	11.00364658	11.00364169	11.61995349	11.61995275

TABLA Nº 6
RESULTADOS INDIVIDUALES DE CINÉTICAS DE DISOLUCIÓN VS TIEMPO, MEDIO Buffer Acetato
pH = 4.5; PRODUCTO DE REFERENCIA (R)

Muestra	Producto de Referencia (Sandimmun® Neoral)				Registro del análisis Nº	006-CCA
Fabricante	R.P. Scherer GmbH & Co. KG, Alemania – NOVARTIS				Vence	12-2010
Medio Disolución	Solución de Buffer Acetato pH=4,5				Lote	S0099
Equipo Disolución	Hanson Research RP8 Plus				Método disolución	Según USP
Fecha de análisis	19/12/2009				Rpm	50
Tiempo (min)	T1 15 min		T2 30 min		T3 45 min	
Vaso	Porcentaje de disolución de ciclosporina (%)	Area bajo la curva (AUC)	Porcentaje de disolución de ciclosporina (%)	Area bajo la curva (AUC)	Porcentaje de disolución de ciclosporina (%)	Area bajo la curva (AUC)
V1	55.66177	3350.46558	77.54210	4667.51514	75.69994	4556.62939
V2	53.76147	3236.08032	73.36909	4416.32764	82.79821	4983.89746
V3	58.33115	3511.14453	71.78992	4321.27246	78.22769	4708.78271
V4	63.00295	3792.35571	74.37491	4476.87158	75.92510	4570.18213
V5	51.82738	3119.66113	78.31403	4713.97998	79.18145	4766.19287
V6	56.22932	3384.62866	75.35926	4536.12256	75.43982	4540.97168
V7	49.58600	2984.74512	73.02674	4395.72070	70.44827	4240.51416
V8	58.35790	3512.75439	76.35295	4595.93604	82.04134	4938.33887
V9	75.22334	4527.94141	76.49241	4604.33057	74.88284	4507.44531
V10	74.09908	4460.26807	76.43391	4600.80957	76.35613	4596.12744
V11	74.25171	4469.45557	74.32174	4473.67090	74.65657	4493.82568
V12	75.66368	4554.44678	73.26909	4410.30811	75.26642	4530.53418
\bar{X}	62.17	3742.00	75.05	4517.74	76.74	4619.45
DS	9.929	597.644	2.008	120.876	3.386	203.811
CV	15.97127345	15.97127374	2.675580143	2.675580112	4.412013457	4.412011354

TABLA Nº 7
RESULTADOS INDIVIDUALES DE CINÉTICAS DE DISOLUCIÓN VS TIEMPO, MEDIO Buffer Acetato
pH = 4.5; PRODUCTO EN ESTUDIO (E)

Muestra	Producto en Estudio (Supramunn®)				Registro del análisis Nº	007-CCA
Fabricante	Ivax Pharmaceuticals S.R.O, República Checa – MEDCO				Vence	02-2010
Medio Disolución	Solución de Buffer Acetato pH=4,5				Lote	4T802001
Equipo Disolución	Hanson Research RP8 Plus				Método disolución	Según USP
Fecha de análisis	19/12/2009 -				Rpm	50
Tiempo (min)	T1 15 min		T2 30 min		T3 45 min	
Vaso	Porcentaje de disolución de ciclosporina (%)	Área bajo la curva (AUC)	Porcentaje de disolución de ciclosporina (%)	Área bajo la curva (AUC)	Porcentaje de disolución de ciclosporina (%)	Área bajo la curva (AUC)
V1			31.40443	1890.33630	42.35282	2549.35596
V2			26.61016	1601.75330	38.51192	2318.15967
V3	10.15023	610.97577	35.74964	2151.88867	74.69228	4495.97510
V4	10.67036	642.28400	24.54965	1477.72424	44.33368	2668.59033
V5	51.88833	3123.32983	43.86844	2640.58618	53.08646	3195.44922
V6	52.40113	3154.19727	51.69974	3111.97778	56.37752	3393.54932
V7	50.58815	3045.06763	50.97314	3068.24146	66.10770	3979.24072
V8	47.64120	2867.68115	56.55409	3404.17725	47.70557	2871.55566
V9	11.17521	672.67285	36.92531	2222.65625	52.78869	3177.52539
V10	16.97725	1021.91656	43.65972	2628.02246	51.15924	3079.44336
V11	12.70994	765.05310	32.01881	1927.31812	51.64572	3108.72656
V12	27.18788	1636.52808	59.34546	3572.19897	73.23492	4408.25146
\bar{X}	29.14	1753.97	41.11	2474.74	54.33	3270.49
DS	19.169	1153.844	11.686	703.414	11.574	696.689
CV	65.78467931	65.78468533	28.42376943	28.42376892	21.30229929	21.30230064

TABLA Nº 8
RESULTADOS INDIVIDUALES DE CINÉTICAS DE DISOLUCIÓN VS TIEMPO, MEDIO Buffer Fosfato
pH = 6.8; PRODUCTO DE REFERENCIA (R)

Muestra	Producto de Referencia (Sandimmun® Neoral)				Registro del análisis Nº	008-CCA
Fabricante	R.P. Scherer GmbH & Co. KG, Alemania – NOVARTIS				Vence	12-2010
Medio Disolución	Solución de Búffer Fosfato pH= 6,8				Lote	S0099
Equipo Disolución	Hanson Research RP8 Plus				Método disolución	Según USP
Fecha de análisis	26/12/2009				Rpm	50
Tiempo (min)	T1 15 min		T2 30 min		T3 45 min	
Vaso	Porcentaje de disolución de ciclosporina (%)	Area bajo la curva (AUC)	Porcentaje de disolución de ciclosporina (%)	Area bajo la curva (AUC)	Porcentaje de disolución de ciclosporina (%)	Area bajo la curva (AUC)
V1	92.62638	4444.61768	94.21853	4521.01611	91.55142	4393.03662
V2	75.43504	3619.70215	90.53800	4344.40820	92.03259	4416.12500
V3	89.37442	4288.57471	88.71028	4256.70605	91.44189	4387.78076
V4	63.16872	3031.11084	84.13093	4036.96924	92.06777	4417.81348
V5	90.84981	4359.37012	92.66419	4446.43213	90.55284	4345.12012
V6	82.58434	3962.75684	90.26665	4331.38770	92.24784	4426.45361
V7	92.22279	4425.25195	93.04575	4464.74121	93.49771	4486.42822
V8	84.99861	4078.60425	90.05885	4321.41650	89.18344	4279.41064
V9	85.92104	4122.86621	91.88140	4408.87061	90.80677	4357.30518
V10	71.52465	3432.05470	90.05596	4321.27783	89.57020	4297.96875
V11	87.69856	4208.15967	92.13892	4421.22754	90.8491	4359.33594
V12	87.61567	4204.18213	93.13332	4468.94287	90.74593	4354.38574
\bar{X}	83.67	4014.77	90.90	4361.95	91.21	4376.76
DS	9.110	437.134	2.676	128.415	1.192	57.197
CV	10.88810454	10.8881373	2.943992781	2.9439926	1.306836357	1.306837207

TABLA Nº 9
RESULTADOS INDIVIDUALES DE CINÉTICAS DE DISOLUCIÓN VS TIEMPO, MEDIO Buffer Fosfato
pH = 6.8; PRODUCTO EN ESTUDIO (E)

Muestra	Producto en Estudio (Supramunn®)				Registro del análisis Nº	009-CCA
Fabricante	Ivax Pharmaceuticals S.R.O, República Checa – MEDCO				Vence	02-2010
Medio	Solución de Buffer Fosfato pH= 6,8				Lote	4T802001
Disolución					Método disolución	Según USP
Equipo	Hanson Research RP8 Plus				Rpm	50
Disolución						
Fecha de análisis	26/12/2009					
Tiempo (min)	T1 15 min		T2 30 min		T3 45 min	
Vaso	Porcentaje de disolución de ciclosporina (%)	Área bajo la curva (AUC)	Porcentaje de disolución de ciclosporina (%)	Área bajo la curva (AUC)	Porcentaje de disolución de ciclosporina (%)	Área bajo la curva (AUC)
V1	4.64710	222.98830	25.61960	1229.34009	29.08438	1395.59534
V2	13.96355	670.03229	43.57416	2090.87842	33.79756	1621.75439
V3	10.96104	525.95844	31.28696	1501.98491	41.66279	1999.16235
V4	7.68793	368.90024	29.29588	1405.74390	39.39795	1890.48572
V5	9.41272	451.66354	29.90181	1434.81921	39.62801	1901.52478
V6	11.97435	574.58154	25.26243	1212.20178	41.37563	1985.38306
V7	8.12581	389.91183	40.46661	1941.76440	34.85190	1672.34607
V8			28.57546	1371.17517	45.58507	2187.37061
V9	19.29679	925.94434	37.78753	1813.21033	37.53202	1800.94983
V10	9.10041	436.67743	27.59184	1323.97693	43.53637	2089.06519
V11	7.31459	350.98572	29.32752	1407.96221	32.24542	1547.27612
V12	6.67689	320.38632	28.82255	1383.03162	41.76385	2004.01196
\bar{X}	9.92	476.18	31.46	1509.67	38.37	1841.24
DS	4.047	194.214	5.896	282.879	4.959	237.952
CV	40.78547188	40.78548152	18.74082632	18.73773955	12.92341661	12.92341875

TABLA Nº 10
Resumen de Cinéticas de Disolución, MEDIO HCl pH = 1.2; PRODUCTO DE REFERENCIA (R), PRODUCTO
EN ESTUDIO (E)

Tiempo (min)		T1 15 min			T2 30 min			T3 45 min		
		\bar{X}	DS	CV	\bar{X}	DS	CV	\bar{X}	DS	CV
PRODUCTO DE REFERENCIA (R) LOTE S0099		67.34	3.07	4.57	73.37	3.29	4.49	74.33	2.05	2.76
PRODUCTO EN ESTUDIO (E) LOTE 4T802001		13.16	2.70	20.54	33.80	3.72	11.00	43.45	5.05	11.62
(Rt - Et)		54.18			39.57			30.88		
(Rt - Et) ²		2935.09234			1565.843728			953.5337932		
F2	RANGO (50-100)	18.50								
F1	RANGO (0-15)	57.96								
Observaciones por punto muestreado										

TABLA Nº 11
Resumen de Cinéticas de Disolución, Medio Buffer Acetato pH = 4.5; PRODUCTO DE REFERENCIA (R),
PRODUCTO EN ESTUDIO (E)

Tiempo (min)		T1 15 min			T2 30 min			T3 45 min		
		\bar{X}	DS	CV	\bar{X}	DS	CV	\bar{X}	DS	CV
PRODUCTO DE REFERENCIA (R) LOTE S0099		62.17	9.93	15.97	75.05	2.01	2.68	76.74	3.39	4.41
PRODUCTO EN ESTUDIO (E) LOTE 4T802001		29.14	19.17	65.78	41.11	11.69	28.42	54.33	11.57	21.30
(Rt - Et)		33.03			33.94			22.41		
(Rt - Et) ²		363.6018282			383.9887883			167.4117388		
F2	RANGO (50-100)	37.86								
F1	RANGO (0-15)	41.77								
Observaciones por punto muestreado										

TABLA N° 12
Resumen de Cinéticas de Disolución, Medio Buffer Fosfato pH = 6.8; PRODUCTO DE REFERENCIA (R),
PRODUCTO EN ESTUDIO (E)

Tiempo (min)		T1 15 min			T2 30 min			T3 45 min		
		\bar{X}	DS	CV	\bar{X}	DS	CV	\bar{X}	DS	CV
PRODUCTO DE REFERENCIA (R) LOTE S0099		83.67	9.11	10.89	90.90	2.68	2.94	91.21	1.19	1.31
PRODUCTO EN ESTUDIO (E) LOTE 4T802001		9.92	4.05	40.79	31.46	5.90	18.74	38.37	4.96	12.92
(Rt - Et)		73.74			59.44			52.84		
(Rt - Et) ²		1812.754959			1177.87107			930.7077613		
F2	RANGO (50-100)	22.08								
F1	RANGO (0-15)	69.99								
Observaciones por punto muestreado										

TABLA Nº 13: RESULTADOS DE SIMILITUD EN DIFERENTES MEDIOS

Producto de Referencia (R)	Sandimmun Neoral 50 mg, cápsulas blandas	Lote:	S0099	Vence	Dic-10
Producto en Estudio (E)	Supramunn® 50mg, cápsulas blandas	Lote:	4T802001	Vence	Feb-10
MEDIOS			CALCULO F2 (SIMILITUD)	OBSERVACIONES	CONCLUSION SEGÚN MEDIO
MEDIO I	HCl pH 1,2		18.50	Prueba realizada por duplicado	No presentan similar perfil de disolución
MEDIO II	BUFFER ACETATO pH 4,5		37.86	1	No presentan similar perfil de disolución
MEDIO III	BUFFER FOSFATO pH 6,8		22.08	1	No presentan similar perfil de disolución
CONCLUSION FINAL comparación perfiles de disolución Producto E y Producto R (según lote muestreado)					
NO SON EQUIVALENTES IN VITRO					
Nombre/Cargo	Analistas	Russbelt Aliaga / Tania Pozo		Firma/Fecha	20/01/2010
ANALISTA				APROBADO	
		<div>$f_2 = 50 \times \log \left\{ \frac{1}{n} \sum_{t=1}^n \left[\frac{R_t - E_t}{R_t} \right]^2 \right\} \times 100$</div> <div>t±1</div>			

n = número de tiempos de muestreo

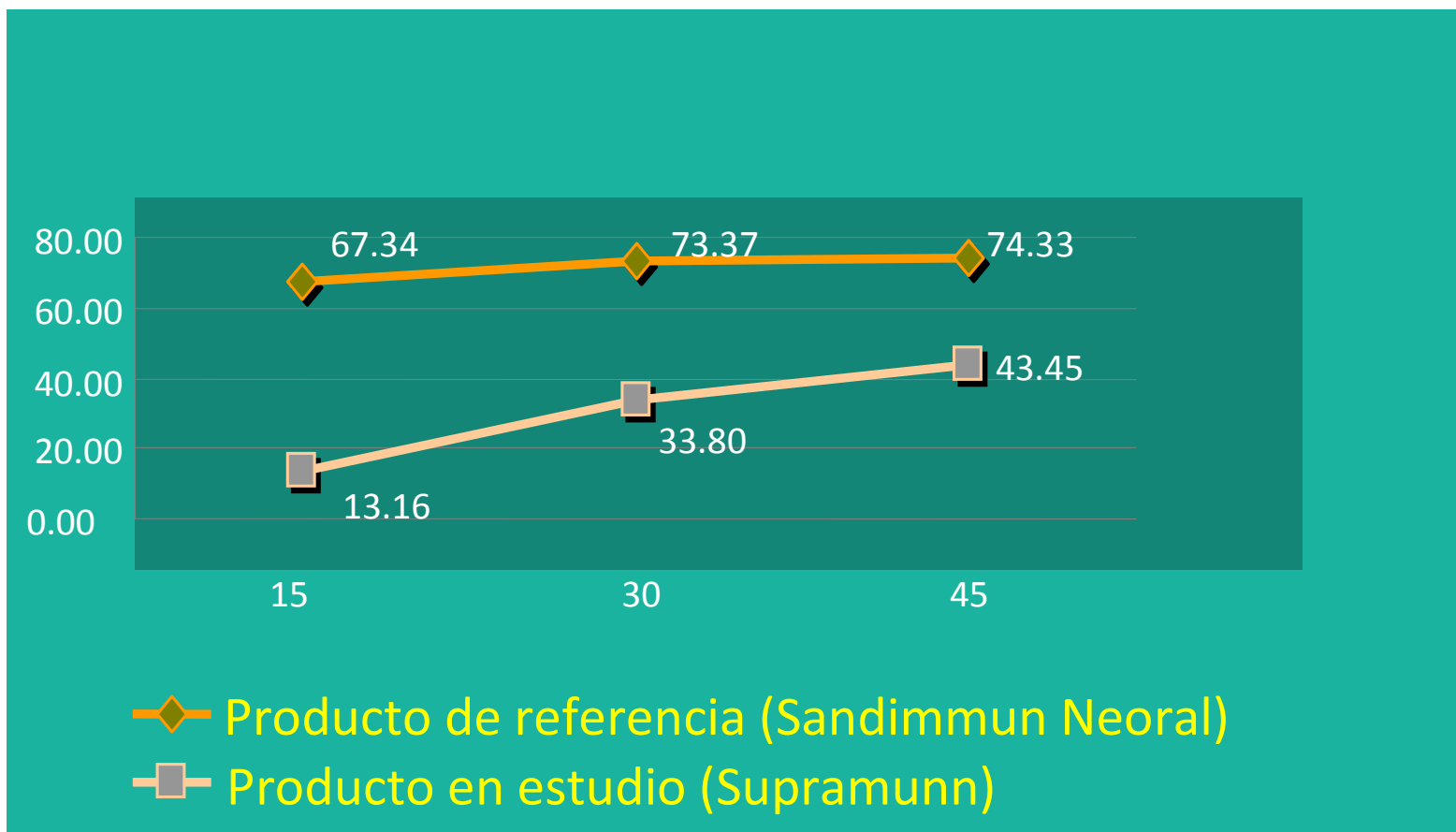
R_t = porcentaje disuelto promedio en el tiempo t del producto de referencia

E_t = porcentaje disuelto promedio en el tiempo t del producto en estudio

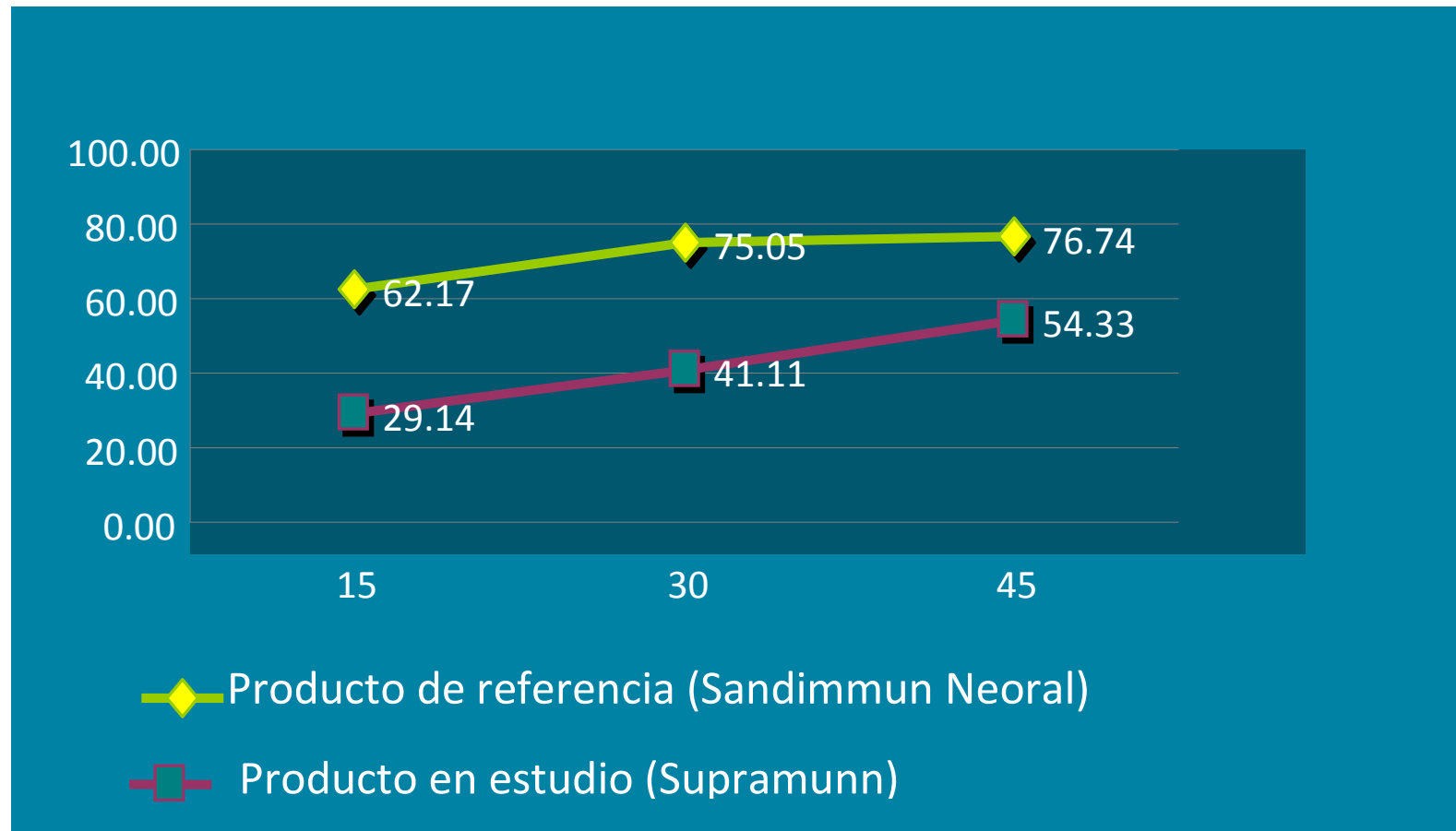
$$f_1 = \left\{ \frac{\sum_{t=1}^n |R_t - T_t|}{\sum_{t=1}^n R_t} \right\} \times 100$$

RESUMENES DE PORCENTAJE DE DISOLUCIÓN DE CICLOSPORINA (%)

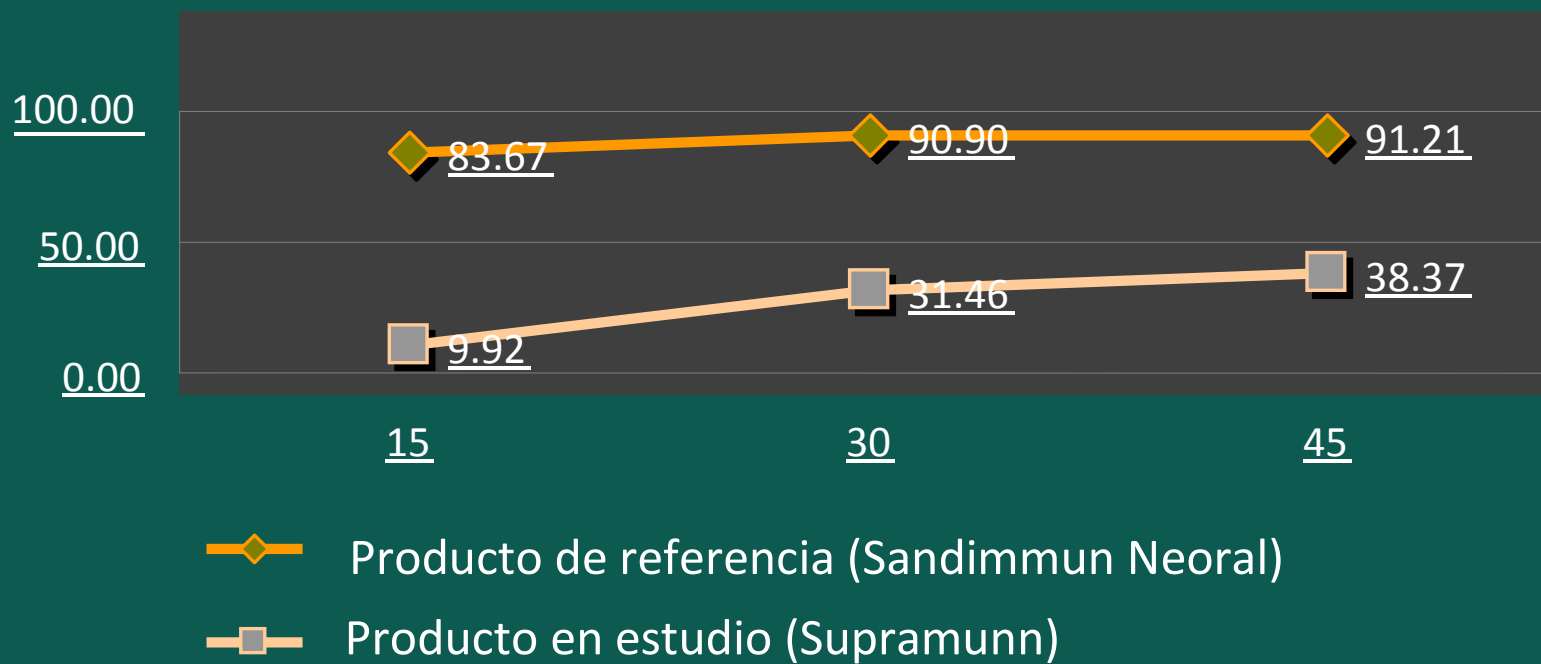
Porcentaje de Disolución de Ciclosporina (%) Vs Tiempo pH = 1.2



Porcentaje de Disolución de Ciclosporina (%) Vs Tiempo
pH = 4.5



Porcentaje de Disolución de Ciclosporina (%) Vs Tiempo
pH = 6.8



V. DISCUSIÓN

El presente estudio se realizó siguiendo la metodología establecida en la USP32, que recomienda el uso del aparato 2 (Método de Paletas) para la realización de los ensayos de disolución. Según el CDER/FDA, el método de paletas constituye un método sencillo, normalizado y se utiliza en todo el mundo ⁽³⁰⁾. Antes de cada prueba se realizó la verificación del equipo disolutor para determinar las principales variables que pueden tener una relación directa con los resultados obtenidos en el estudio, para ello se tomó como referencia los criterios de la FDA: Division of Pharmaceutical Analysis ⁽³⁰⁾. Los resultados de esta verificación se resumen en la Tabla N° 2.

Otra prueba realizada en ambas formulaciones fue la determinación de la variación de peso, en la que los resultados obtenidos muestran que en promedio las capsulas del producto en estudio tiene un peso ligeramente mayor (aproximadamente 8%) que las del producto de referencia.

Durante el desarrollo de los perfiles de disolución, se observó que ambas formulaciones de ciclosporina (producto de referencia y producto en estudio) cumplen con las especificaciones establecidas en la USP32 respecto al desarrollo de los ensayos de disolución, ya que la ruptura de las cápsulas se produce en un tiempo no mayor de 15 minutos.

El producto de referencia alcanza un pico de liberación alto en los primeros 15 minutos, siendo el medio de disolución III (pH 6.8) donde presenta un mayor porcentaje de liberación (aproximadamente 85%) en los primeros 15 minutos con respecto a los otros dos medios de disolución, lo cual evidencia una mayor velocidad de disolución a nivel del duodeno y yeyuno. Este resultado es similar al reportado por Avramoff, Laor et al ⁽¹⁾ en el estudio de comparación de perfiles de disolución entre dos marcas de ciclosporina.

El producto en estudio, no alcanza un porcentaje de liberación del principio activo mayor al 60% en ninguno de los tres medios de disolución, asimismo el porcentaje de liberación del principio activo a los 15 minutos no alcanzó el 30% en ninguno de los tres medios de disolución, lo cual se podría interpretar como algo contradictorio, ya que todas las cápsulas de estudio se rompen antes de los 15 minutos; sin embargo su disolución es lenta y prolongada, probablemente por la influencia de su formulación y la solubilidad del producto ⁽¹⁰⁾.

Para el desarrollo de los perfiles de disolución, se tomó como referencia las condiciones establecidas por la FDA ⁽³⁰⁾, OMS ⁽⁷⁾ y EMA ⁽³⁶⁾, los cuales refieren que la evaluación de los perfiles de disolución se debe realizar mediante el parámetro de similitud (f2) y el parámetro de diferencia (f1). Al realizar el análisis de los resultados

obtenidos, el parámetro estadístico relacionado con la diferencia de los perfiles de disolución del producto en estudio versus el producto de referencia (f1), da como resultados un valor f1 de 57.96; 41.77 y 69.99 para los medios de disolución I, II y III respectivamente, que están fuera del rango establecido (0 - 15). Este resultado nos indica que hay una diferencia significativa en los porcentajes de disolución de ambas formulaciones comparados en los diferentes tiempos en que se tomó la muestra (15, 30 y 45 minutos).

El parámetro estadístico relacionado con el grado de similitud de los perfiles de disolución entre el producto de referencia y el producto en estudio (f2) muestran valores f2 de 18.50; 37.86 y 22.08 para los medios de disolución I, II y III respectivamente, los cuales no se encuentran dentro de los rangos establecidos (50 y 100). Este resultado evidencia que ambos fármacos tienen un comportamiento fisicoquímico diferente, lo cual justifica los diferentes perfiles de disolución obtenidos durante el estudio, evidencia además que existen diferencias en la calidad de los productos y puede ser un indicador del desempeño in vivo ⁽⁸⁾.

Por otro lado, no hay referencias de estudios previos para determinar la equivalencia in Vitro entre estas dos formulaciones, sin embargo estudios de equivalencia in vivo entre el producto de referencia y el producto en estudio demuestran bioequivalencia e intercambiabilidad en pacientes transplantados. En tal sentido, es necesario mencionar que el estudio de disolución in Vitro no puede sustituir al estudio de bioequivalencia, hasta tanto no sea relacionado con datos in vivo. Esto quiere decir, que sería un error dar por sentado la bioequivalencia entre dos formulaciones, solo por la similitud encontrada en los perfiles de disolución in Vitro o la bioinequivalencia en caso de perfiles diferentes ⁽³⁷⁾. Así por ejemplo, Tand y otros investigadores ⁽³⁸⁾ hicieron un estudio comparativo entre dos formulaciones con mismo principio activo y encontraron grandes diferencias in Vitro; si no se hubiera comprobado la bioequivalencia de ambas formulaciones en el estudio in vivo se hubiese supuesto erróneamente lo contrario. Es innegable la imposibilidad de realizar un estudio in vivo a cada uno de los lotes que se fabrican y es aquí donde la correlación in Vivo/in Vitro desempeña una función determinante en el aseguramiento de la calidad de todos los lotes que saldrán al mercado. Los estándares para establecer la correlación in Vitro/in Vivo han sido desarrollados tanto por la USP como por la FDA.

VI. CONCLUSIONES

1. Las formulaciones del producto de referencia y producto en estudio evaluadas NO son equivalentes in Vitro, ya que tienen un comportamiento diferente durante el desarrollo de los perfiles de disolución.
2. El producto de referencia presenta un mayor porcentaje de disolución (91.21%), a los 45 minutos en el medio III (pH = 6.8), mientras que el producto en estudio, presenta un mayor porcentaje de disolución (54.33%) a los 45 minutos en el medio II (pH = 4.5), sin embargo este es un porcentaje menor al obtenido con el producto de referencia (76.74%) en este mismo medio.
3. El producto de referencia y el producto en estudio muestran diferencias significativas en los perfiles de disolución, siendo esta mayor en el medio I (pH = 1.2) y menor en el medio II (pH = 4.5).
4. Las dos formulaciones de ciclosporina empleadas en el estudio NO presentan equivalencia in Vitro, sin embargo no se puede descartar intercambiabilidad, mientras no se determine la correlación in Vitro-in Vivo de ambas formulaciones.

VII. RECOMENDACIONES

1. El presente estudio proporciona una línea base para evaluar la calidad de ambas formulaciones y debe ser usada como una guía para el mejoramiento continuo de las formulaciones disponibles en el mercado.
2. Realizar estudios de equivalencia in Vitro de manera complementaria a los estudios de equivalencia in Vivo, de manera que se pueda evaluar la calidad, demostrar la intercambiabilidad y garantizar la seguridad y eficacia de los productos.
3. La Autoridad Reguladora (DIGEMID), debe solicitar, antes de emitir un registro sanitario, estudios de bioequivalencia in Vitro además de estudios de equivalencia in Vivo y la correlación in Vitro / in Vivo para fármacos de estrecho margen terapéutico.

VIII. GLOSARIO

Biodisponibilidad (Bioavailability): Velocidad y cantidad con que el ingrediente farmacéutico activo es absorbido desde una forma farmacéutica y se encuentra disponible en forma inalterada en la circulación general.

Bioequivalencia (Bioequivalence): Comparación de las biodisponibilidades de un producto multifuente y un producto de referencia. Dos productos farmacéuticos son bioequivalentes si son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas y sus biodisponibilidades después de su administración en la misma dosis molar son similares a tal punto que cabe prever que sus efectos serán esencialmente los mismos.

Bioexención (Biowaiver): Excepción de realizar estudios *in vivo* para demostrar equivalencia terapéutica

Equivalencia in Vitro (in Vitro equivalence test): Prueba de disolución que incluye comparación de perfiles de disolución entre el producto en estudio y el producto de referencia en tres medios: pH 1.2, pH 4.5 y pH 6.8.

Medicamento intercambiable (Switchability Drugs) : Es aquél que es terapéuticamente equivalente al producto de referencia y que puede ser intercambiado con éste en la práctica clínica.

Perfil de Disolución (Dissolution Profile): Curva que caracteriza la cinética de disolución cuando se representa gráficamente la cantidad o porcentaje del medicamento disuelto en función del tiempo.

Producto de referencia (Investigational new drug applications): Generalmente es aquél que fue autorizado por primera vez en el mundo sobre la base de documentación de calidad, seguridad y eficacia.

Producto en estudio (Generic Drug): Son todos aquellos medicamentos diferentes al innovador. Los medicamentos genéricos, que hayan demostrado equivalencia *in vivo* o *in vitro*, se consideran terapéuticamente equivalentes al producto de referencia y pueden ser declarados intercambiables.

Sistema de Clasificación Biofarmacéutica - BCS (*Biopharmaceutics Classification System*): Es un marco científico para clasificar IFA sobre la base de su solubilidad acuosa y su permeabilidad intestinal. Cuando se combinan con la disolución del medicamento, el SCB toma en cuenta tres factores: disolución, solubilidad y permeabilidad intestinal que rigen la velocidad y cantidad de absorción (exposición) de IFA desde una forma farmacéutica sólida oral de liberación inmediata.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Avramoff A, Kitzes C, Farin D, Domb J. Comparative in vivo bioequivalence and in vitro dissolution of two cyclosporine A soft gelatine capsule formulations. *Int J of Clin Pharmacol Ther* 2007; 45(2): 126–132.
2. FDA Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guía para la industria: Formas posológicas orales sólidas de liberación inmediata; Cambios de escala y posteriores a la aprobación: documentación química, de fabricación y controles, de pruebas de disolución in vitro y bioequivalencia in vivo. Maryland; USA 1995. Disponible en URL: <http://www.fda.gov/cder>
3. Yu-Yuan C, Kazutaka H, Brien L, Jeffrey L, Lynda S, Amidon G. Human Jejunal Permeability of Cyclosporin A: Influence of Surfactants on P-Glycoprotein Efflux in Caco-2 Cells. *Pharmaceut Res* 2003; 20(5).
4. Poder Legislativo. Congreso de la República. Ley 29316: Ley que Modifica, Incorpora y Regula diversas Disposiciones a Fin de Implementar el Acuerdo de Promoción Comercial Suscrito entre el Peru y los Estados Unidos de America. Pub. Diario El Peruano (14 de Enero 2009).
5. Poder Legislativo. Congreso de la República. Decreto Supremo N° 001-2009 SA. Reglamento de la Ley N° 26842, Ley General de Salud. Pub. Diario El Peruano (29 de Enero 2009).
6. Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas (DIGEMID). Proyecto: Directiva para establecer Equivalencia Terapéutica de Medicamentos. [de próxima aparición]. Mayo 2009.
7. World Health Organization (WHO). Annex 7: Multisource (generic) pharmaceutical products. Guidelines on registration requirements to establish interchangeability. WHO technical report series No. 937. Geneva; Switzerland 2006.
8. Suong N. When do differences in dissolution profiles predict clinical problems?. *J Clin Pharmacol* 2007; 32: 111-112
9. Amidon G, Bermejo M. Biofarmacia: Curso internacional de Bioequivalencia y Biodisponibilidad. Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins (HNERM). Lima; Perú. 15 - 20 de Junio 2008.
10. Therapeutic Systems Research Laboratories. Modern Biopharmaceuticals™ Versión 6. Software. TSRL Inc. Ann Arbor; USA 2008.
11. Betteta R, Vargas S. Comparación de perfiles de disolución de las distintas presentaciones de Nimodipino 30 mg tabletas recubiertas existentes en el

- mercado. [Trabajo de tesis para optar título de Químico Farmacéutico]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima 2004.
12. Juárez J. Biodisponibilidad y Bioequivalencia: una cualidad o exigencia de registro de los medicamentos. *Rev Diagnóstico* 2004; 43 (4): 43-44.
 13. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología (A.N.M.A.T.). Bioequivalencia Disposición N° 1746-2007 ANEXO I, Buenos Aires, Marzo 2007.
 14. Moreno L. Curso Taller: Estudio de Equivalencia Terapéutica de Medicamentos In Vivo / In Vitro. Lima; Perú Julio 2009.
 15. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Criterios Científicos para los Ensayos de Bioequivalencia (In Vivo / In Vitro), las Bioexenciones y las estrategias para su Implementación. IV Conferencia Panamericana para la Armonización de Reglamento. República Dominicana 2 – 4 Marzo 2005.
 16. Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas (DIGEMID). Pre-Dictamen N° 13-2007-2008-CSPFPD-CR (Periodo Anual de Sesiones 2007-2008), recaído en los proyectos de Ley N° 23/2006-PE, 491/2006-CR, 625/2006-CR, 670/2006-CR, 959/2006-PE, 1170/2006-CR y 2216/2006-CR que Propone la Ley General de los productos farmacéuticos, dispositivos médicos y productos sanitarios. Lima, Mayo 2008.
 17. Poder Legislativo. Congreso de la República. Ley 29459: Ley de los Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos, y Productos Sanitarios. Pub. Diario El Peruano (26 de Noviembre 2009).
 18. The Pharmaceutical Press. Martindale: The Complete Drug Reference. London; United Kingdom. Copyright © 1993 – 2010.
Disponible en URL: <http://www.medicinescomplete.com>
 19. Heusler K, Pletscher A. The controversial early history of ciclosporina. *Swiss Med Wkly* 2001; 131: 299 – 302.
 20. World Health Organization (WHO). Who expert committee on specifications for pharmaceutical preparations. Fortieth Report. Geneva; Switzerland 2006.
 21. Therapeutic Systems Research Laboratories. Biopharmaceutics Classification System (BCS) TSRL Inc. Ann Arbor; USA 2008.
Disponible en URL: <http://www.tsrlinc.com/services/bcs/results.cfm>
 22. Amidon G. The role of the Biopharmaceutics Classification System and In Vitro-In Vivo. Correlation in the approval of drug products. Frankfurt am Main, Germany. 23 – 25 Marzo 1998
 23. FDA Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guía para la industria: Exención de los estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia in vivo para formas

posológicas orales sólidas de liberación inmediata en base a un sistema de Clasificación Biofarmacéutico. Maryland; USA Agosto 2000.

Disponible en URL: <http://www.fda.gov/cder>.

24. Neslihan R, Simon B. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs. Depart of Pharmaceutics, The Hebrew Univ of Jerusalem 2004; 91120(2).
25. Centro Nacional de Documentación e Información de Medicamentos (CENADIM-DIGEMID). Bioequivalencia: Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS). Lima 2006; 1(2): 1-3.
26. Novartis Pharma AG. *Sandimmun Neoral*[®], cápsulas de gelatina blanda; Prospecto de información del producto. Basilea; Suiza 2008.
27. Belitsky P, Mahalati K, West K, Sketris I. Influence of Drug Formulation on Utilization and Outcomes: Neoral and Monitoring by Sparse Simple Area Under the Curve. Transplant Proc 1999; 31: 1667-1668.
28. Pérez J, Porta B, Jiménez N. Bioequivalencia e intercambio terapéutico de especialidades farmacéuticas: aplicación a Ciclosporina en trasplante renal. Rev. Nefrología 2003; 23(1).
29. Kovarik JM, Mueller EA, Johnston A, Kutz G. Bioequivalence of soft gelatine capsules and oral solution of a new cyclosporine formulation. Pharmacotherapy 1993; 13(6): 613-617.
30. FDA Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guía para la industria: Pruebas de disolución de formas de dosificación oral sólidas de liberación inmediata, Maryland; USA Agosto 1997.
Disponible en URL: <http://www.fda.gov/cder>.
31. The United States Pharmacopoeia (USP). Pharmacopoeia N° 32-NF27. Maryland; USA Mayo 2009 – Mayo 2010.
32. Kiehman K, Dressman J. Evaluation of Drug Adsorption to Membrane filter under Biowaiver Test Conditions. Dissolution Technol Noviembre 2008; 15: 13-19.
33. Ministerio de Salud, Subsecretaria de Salud Pública. Norma que define los Criterios destinados a establecer Equivalencia Terapéutica en Productos Farmacéuticos en Chile. Resolución Exenta N° 727/05 Pub. en el Diario Oficial (29 de Noviembre 2005)
34. Pérez P, García M, Orriols R, Ferran E, Monserrat C, Josep Ramon T et al. Estudio Comparativo de Cinéticas de disolución de una misma especialidad

farmacéutica y diferentes Países Europeos. Biofarmacia y Farmacocinética. Univ. de Barcelona. Febrero 2003; 365-368.

35. FDA - Division of Pharmaceutical Analysis. Mechanical Qualification of Dissolution Apparatus 1 and 2. Document # DPA-LOP.002. Maryland; USA Junio 2006.
36. European Medicines Agency (EMA). Guideline on the Investigation of Bioequivalence. Doc. Ref.: CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1/Corr**. London; United Kingdom (20 de Enero 2010).
37. Carrión D, Gonzáles C, Olivera L, Correa A. Bioequivalencia. Introducción a la Correlación In Vivo – In Vitro. Parte I. Centro Nacional de Toxicología. Rev. Cubana Farm 1999; 33 (2): 137-42
38. Tand L, Stubbs C, Kanfer I. Level A in Vitro / in vivo correlations: A quality control tool of bioequivalence predictor for extended-release solid oral dosage forms?. Drug Dev Ind Pharm 1995; 21 (8) : 889 - 904

ANEXOS

Calibration Table

Calib. Data Modified : Saturday, January 09, 2010 12:06:59 PM
Calculate : External Standard
Based on : Peak Area
Rel. Reference Window : 5.000 %
Abs. Reference Window : 0.000 min
Rel. Non-ref. Window : 5.000 %
Abs. Non-ref. Window : 0.000 min
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
Uncalibrated Peaks : using compound ciclosporina
Partial Calibration : Yes, identified peaks are recalibrated
Correct All Ret. Times: No, only for identified peaks

Curve Type : Linear
Origin : Forced
Weight : Equal

Recalibration Settings:
Average Response : Average all calibrations
Average Retention Time: Floating Average New 75%

Calibration Report Options :
Printout of recalibrations within a sequence:
Calibration Table after Recalibration
Normal Report after Recalibration
If the sequence is done with bracketing:
Results of first cycle (ending previous bracket)

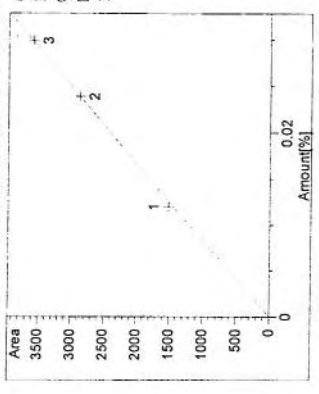
Signal 1: DAD1 A, Sig=210,4 Ref=360,100

RetTime	Lvl	Amount	Area	Amt/Area	Ref Grp Name
[min]	Sig	[%]			
17.863	1	1.19731e-2	1511.63013	7.92067e-6	ciclosporina
2	2.39460e-2	2866.67782	8.35322e-6		
3	2.99330e-2	3572.52504	8.37867e-6		

Peak Sum Table

No Entries in table

Calibration Curves



ciclosporina at exp. RT: 17.863
DAD1 A, Sig=210,4 Ref=360,100
Correlation: 0.99987
Residual Std. Dev.: 54.83538
Formula: $y = mx$
m: 120093.42238
x: Amount
y: Area

S t a t i s t i c R e p o r t

Sequence table: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2010-01-02 14-18-53\TESIS.S
Data directory path: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2010-01-02 14-18-53\
Operator: CCA

Method file name: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2010-01-02 14-18-53\CICLOSPORINA.M

Run #	Location	Inj #	Inj. Date/Time	File Name	Sample Name
1	Vial 2	1	1/2/2010 9:41:45 PM	tesis000011.D	ST1
2	Vial 2	1	1/2/2010 10:14:57 PM	tesis000012.D	ST1
3	Vial 2	1	1/2/2010 10:48:09 PM	tesis000013.D	ST1
4	Vial 2	1	1/2/2010 11:21:21 PM	tesis000014.D	ST1
5	Vial 2	1	1/2/2010 11:54:32 PM	tesis000015.D	ST1
6	Vial 3	1	1/3/2010 12:27:45 AM	tesis000016.D	ST2
7	Vial 3	1	1/3/2010 1:01:00 AM	tesis000017.D	ST2
8	Vial 3	1	1/3/2010 1:34:13 AM	tesis000018.D	ST2
9	Vial 3	1	1/3/2010 2:07:27 AM	tesis000019.D	ST2
10	Vial 3	1	1/3/2010 2:40:39 AM	tesis000020.D	ST2
11	Vial 4	1	1/3/2010 3:13:53 AM	tesis000021.D	ST3
12	Vial 4	1	1/3/2010 3:47:06 AM	tesis000022.D	ST3
13	Vial 4	1	1/3/2010 4:20:18 AM	tesis000023.D	ST3
14	Vial 4	1	1/3/2010 4:53:30 AM	tesis000024.D	ST3
15	Vial 4	1	1/3/2010 5:26:44 AM	tesis000025.D	ST3

Compound: ciclosporina (Signal: DAD1 A, Sig=210, 4 Ref=360,100)

Run #	Type	RetTime [min]	Amount [%]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Width [min]	Symm.
1	BBA	17.893	1.32048e-2	1523.12256	14.97374	1.2567	0.97
2	BBA	17.880	1.32354e-2	1526.83569	15.09462	1.2001	0.94
3	BBA	17.869	1.30732e-2	1507.56470	14.83318	1.2677	0.94
4	BBA	17.869	1.27282e-2	1466.53149	14.66339	1.2028	0.95
5	BBA	17.860	1.33097e-2	1534.09619	15.10917	1.2046	0.91
6	BBA	17.869	2.62842e-2	3045.77759	29.95685	1.4462	0.92
7	BBA	17.855	2.58261e-2	3002.57544	29.72159	1.4566	0.91
8	BBA	17.866	2.54627e-2	2966.39014	29.38712	1.4237	0.92
9	BBA	17.867	2.56455e-2	2993.61060	29.69507	1.3901	0.93
10	BBA	17.858	2.56305e-2	2996.81299	29.64905	1.4412	0.91
11	BBA	17.859	3.18268e-2	3750.75391	37.05830	1.4848	0.92
12	BBA	17.864	3.17693e-2	3767.24463	37.20510	1.4573	0.91
13	BBA	17.857	3.17760e-2	3787.46118	37.36490	1.4666	0.90
14	BBA	17.868	3.15678e-2	3777.50024	37.20203	1.4866	0.92
15	BBA	17.862	3.16784e-2	3804.36646	37.38812	1.4671	0.90

Mean: 17.866 2.35346e-2 2763.37625 27.28682 1.3768 0.92
S.D.: 9.64e-3 8.03683e-3 973.44992 9.59024 0.1139 0.02
RSD : 0.054 34.14907 35.22683 35.14607 8.2724 2.04
95% CI: 5.34e-3 4.45065e-3 539.07847 5.31090 0.0631 0.01

S t a t i s t i c R e p o r t

Sequence table: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2010-01-02 14-18-53\TESIS.S
Data directory path: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2010-01-02 14-18-53\
Operator: CCA

Method file name: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2010-01-02 14-18-53\CICLOSPORINA.M

Run #	Location	Inj #	Inj. Date/Time	File Name	Sample Name
16	Vial 11	1	1/3/2010 9:19:16 AM	tesis000032.D	NEOVAS1-15MIN
17	Vial 12	1	1/3/2010 9:52:30 AM	tesis000033.D	NEOVAS2-15MIN
18	Vial 13	1	1/3/2010 10:25:43 AM	tesis000034.D	NEOVAS3-15MIN
19	Vial 14	1	1/3/2010 10:58:57 AM	tesis000035.D	NEOVAS4-15MIN
20	Vial 15	1	1/3/2010 11:32:11 AM	tesis000036.D	NEOVAS5-15MIN
21	Vial 16	1	1/3/2010 12:05:25 PM	tesis000037.D	NEOVAS6-15MIN
22	Vial 17	1	1/3/2010 12:38:38 PM	tesis000038.D	NEOVAS7-15MIN
23	Vial 18	1	1/3/2010 1:11:52 PM	tesis000039.D	NEOVAS8-15MIN
24	Vial 19	1	1/3/2010 1:45:06 PM	tesis000040.D	NEOVAS9-15MIN
25	Vial 20	1	1/3/2010 2:18:20 PM	tesis000041.D	NEOVAS10-15MIN
26	Vial 21	1	1/3/2010 2:51:36 PM	tesis000042.D	NEOVAS11-15MIN
27	Vial 22	1	1/3/2010 3:24:52 PM	tesis000043.D	NEOVAS12-15MIN
28	Vial 23	1	1/3/2010 3:58:05 PM	tesis000044.D	NEOVAS1-30MIN
29	Vial 24	1	1/3/2010 4:31:17 PM	tesis000045.D	NEOVAS2-30MIN
30	Vial 25	1	1/3/2010 5:04:32 PM	tesis000046.D	NEOVAS3-30MIN
31	Vial 26	1	1/3/2010 5:37:45 PM	tesis000047.D	NEOVAS4-30MIN
32	Vial 27	1	1/3/2010 6:10:59 PM	tesis000048.D	NEOVAS5-30MIN
33	Vial 28	1	1/3/2010 6:44:13 PM	tesis000049.D	NEOVAS6-30MIN
34	Vial 29	1	1/3/2010 7:17:27 PM	tesis000050.D	NEOVAS7-30MIN
35	Vial 30	1	1/3/2010 7:50:41 PM	tesis000051.D	NEOVAS8-30MIN
36	Vial 31	1	1/3/2010 8:23:57 PM	tesis000052.D	NEOVAS9-30MIN
37	Vial 32	1	1/3/2010 8:57:13 PM	tesis000053.D	NEOVAS10-30MIN
38	Vial 33	1	1/3/2010 9:30:26 PM	tesis000054.D	NEOVAS11-30MIN
39	Vial 34	1	1/3/2010 10:03:40 PM	tesis000055.D	NEOVAS12-30MIN
40	Vial 35	1	1/3/2010 10:36:54 PM	tesis000056.D	NEOVAS1-45MIN
41	Vial 36	1	1/3/2010 11:10:09 PM	tesis000057.D	NEOVAS2-45MIN
42	Vial 37	1	1/3/2010 11:43:24 PM	tesis000058.D	NEOVAS3-45MIN
43	Vial 38	1	1/4/2010 12:16:39 AM	tesis000059.D	NEOVAS4-45MIN
44	Vial 39	1	1/4/2010 12:49:54 AM	tesis000060.D	NEOVAS5-45MIN
45	Vial 40	1	1/4/2010 1:23:05 AM	tesis000061.D	NEOVAS6-45MIN
46	Vial 41	1	1/4/2010 1:56:20 AM	tesis000062.D	NEOVAS7-45MIN
47	Vial 42	1	1/4/2010 2:29:37 AM	tesis000063.D	NEOVAS8-45MIN
48	Vial 43	1	1/4/2010 3:02:50 AM	tesis000064.D	NEOVAS9-45MIN
49	Vial 44	1	1/4/2010 3:36:04 AM	tesis000065.D	NEOVAS10-45MIN
50	Vial 45	1	1/4/2010 4:09:19 AM	tesis000066.D	NEOVAS11-45MIN
51	Vial 46	1	1/4/2010 4:42:33 AM	tesis000067.D	NEOVAS12-45MIN
52	Vial 47	1	1/4/2010 5:15:48 AM	tesis000068.D	SUPVAS1-15MIN
53	Vial 48	1	1/4/2010 5:49:03 AM	tesis000069.D	SUPVAS2-15MIN
54	Vial 49	1	1/4/2010 6:22:18 AM	tesis000070.D	SUPVAS3-15MIN
55	Vial 50	1	1/4/2010 6:55:33 AM	tesis000071.D	SUPVAS4-15MIN
56	Vial 51	1	1/4/2010 7:28:48 AM	tesis000072.D	SUPVAS5-15MIN
57	Vial 52	1	1/4/2010 8:02:04 AM	tesis000073.D	SUPVAS6-15MIN
58	Vial 53	1	1/4/2010 8:35:18 AM	tesis000074.D	SUPVAS7-15MIN
59	Vial 54	1	1/4/2010 9:08:33 AM	tesis000075.D	SUPVAS8-15MIN
60	Vial 55	1	1/4/2010 9:41:47 AM	tesis000076.D	SUPVAS9-15MIN
61	Vial 56	1	1/4/2010 10:15:01 AM	tesis000077.D	SUPVAS10-15MIN
62	Vial 57	1	1/4/2010 10:48:17 AM	tesis000078.D	SUPVAS11-15MIN
63	Vial 58	1	1/4/2010 11:21:31 AM	tesis000079.D	SUPVAS12-15MIN
64	Vial 59	1	1/4/2010 11:54:46 AM	tesis000080.D	SUPVAS1-30MIN
65	Vial 60	1	1/4/2010 12:28:01 PM	tesis000081.D	SUPVAS2-30MIN
66	Vial 61	1	1/4/2010 1:01:16 PM	tesis000082.D	SUPVAS3-30MIN
67	Vial 62	1	1/4/2010 1:34:31 PM	tesis000083.D	SUPVAS4-30MIN
68	Vial 63	1	1/4/2010 2:07:45 PM	tesis000084.D	SUPVAS5-30MIN
69	Vial 64	1	1/4/2010 2:41:01 PM	tesis000085.D	SUPVAS6-30MIN

Run Location	Inj	Inj. Date/Time	File Name	Sample Name
70 Vial 65	1	1/4/2010 3:14:17 PM	tesis000086.D	SUPVAS7-30MIN
71 Vial 66	1	1/4/2010 3:47:32 PM	tesis000087.D	SUPVAS8-30MIN
72 Vial 67	1	1/4/2010 4:20:47 PM	tesis000088.D	SUPVAS9-30MIN
73 Vial 68	1	1/4/2010 4:54:02 PM	tesis000089.D	SUPVAS10-30MIN
74 Vial 69	1	1/4/2010 5:27:17 PM	tesis000090.D	SUPVAS11-30MIN
75 Vial 70	1	1/4/2010 6:00:32 PM	tesis000091.D	SUPVAS12-30MIN
76 Vial 71	1	1/4/2010 6:33:49 PM	tesis000092.D	SUPVAS1-45MIN
77 Vial 72	1	1/4/2010 7:07:05 PM	tesis000093.D	SUPVAS2-45MIN
78 Vial 73	1	1/4/2010 7:40:18 PM	tesis000094.D	SUPVAS3-45MIN
79 Vial 74	1	1/4/2010 8:13:32 PM	tesis000095.D	SUPVAS4-45MIN
80 Vial 75	1	1/4/2010 8:46:49 PM	tesis000096.D	SUPVAS5-45MIN
81 Vial 76	1	1/4/2010 9:20:05 PM	tesis000097.D	SUPVAS6-45MIN
82 Vial 77	1	1/4/2010 9:53:22 PM	tesis000098.D	SUPVAS7-45MIN
83 Vial 78	1	1/4/2010 10:26:38 PM	tesis000099.D	SUPVAS8-45MIN
84 Vial 79	1	1/4/2010 10:59:54 PM	tesis000100.D	SUPVAS9-45MIN
85 Vial 80	1	1/4/2010 11:33:09 PM	tesis000101.D	SUPVAS10-45MIN
86 Vial 81	1	1/5/2010 12:06:25 AM	tesis000102.D	SUPVAS11-45MIN
87 Vial 82	1	1/5/2010 12:39:41 AM	tesis000103.D	SUPVAS12-45MIN

Compound: ciclosporina (Signal: DAD1 A, Sig=210,4 Ref=360,100)

Run Type	RetTime [min]	Amount [%]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Width [min]	Symm.
16 BB	17.867	69.26679	4159.24268	42.12004	1.4721	0.96
17 BB	17.865	68.53507	4115.30566	41.70357	1.4613	0.96
18 BB	17.870	66.31278	3981.86450	40.36354	1.4529	0.97
19 BB	17.864	67.49305	4052.73584	41.14033	1.4353	0.97
20 BB	17.848	65.16964	3913.22266	39.91554	1.4458	0.96
21 BB	17.836	69.29551	4160.96777	42.70020	1.4189	0.97
22 BB	17.822	70.78299	4250.28564	43.75665	1.4432	0.96
23 BB	17.821	62.81776	3772.00000	39.02113	1.4078	0.97
24 BB	17.814	68.23805	4097.47070	42.41539	1.4390	0.96
25 BB	17.818	61.74531	3707.60303	38.32336	1.4367	0.96
26 BB	17.819	72.19228	4334.90869	44.80532	1.4087	0.97
27 BB	17.821	66.21274	3975.85742	41.21548	1.4354	0.97
28 BB	17.810	73.56431	4417.29492	45.68045	1.4362	0.96
29 BB	17.802	72.98086	4382.26074	45.53211	1.4429	0.97
30 BB	17.801	82.32787	4943.51807	51.36703	1.4508	0.97
31 BB	17.795	73.17341	4393.82275	45.65113	1.4569	0.96
32 BB	17.799	71.49599	4293.09912	44.49844	1.3956	0.96
33 BB	17.807	70.84458	4253.98389	43.90940	1.4183	0.96
34 BB	17.802	74.73842	4487.79639	46.40447	1.4683	0.96
35 BB	17.790	68.59104	4118.66650	42.91604	1.4257	0.96
36 BB	17.783	74.30488	4461.76367	46.46283	1.4043	0.96
37 BB	17.774	73.50613	4413.80127	46.03096	1.4087	0.96
38 BB	17.787	73.41296	4408.20703	45.74840	1.4422	0.97
39 BB	17.785	71.52782	4295.01025	44.44588	1.4574	0.95
40 BB	17.786	72.88641	4376.58936	45.23693	1.4327	0.96
41 BB	17.788	76.69793	4605.45850	47.70570	1.4723	0.97
42 BB	17.783	74.43747	4469.72510	46.33373	1.4495	0.96
43 BB	17.774	75.89502	4557.24609	47.24134	1.4475	0.96
44 BB	17.785	72.82871	4373.12451	45.08093	1.4697	0.96
45 BB	17.773	73.00534	4383.73047	45.30877	1.4168	0.96
46 BB	17.770	75.91416	4558.39551	47.06079	1.4441	0.95
47 BB	17.767	73.21158	4396.11475	45.52398	1.4606	0.96
48 BB	17.773	72.21624	4336.34766	44.67087	1.4865	0.96
49 BB	17.760	78.53429	4715.72559	48.85669	1.4521	0.96
50 BB	17.748	74.48463	4472.55713	46.38406	1.4490	0.95
51 BB	17.756	71.81026	4311.96973	44.63672	1.3630	0.95
53 BB	17.756	10.59536	636.21674	6.55391	1.3365	0.92

Run Type	RetTime [min]	Amount [%]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Width [min]	Symm.
55 BB	17.764	14.79348	888.29956	9.16790	1.1464	0.96
56 BB	17.764	20.24457	615.15265	6.31223	1.1490	0.93
57 BB	17.760	18.13043	1088.67285	11.21063	1.1870	0.92
58 BB	17.768	16.24414	975.40747	9.98255	1.1520	0.89
59 BB	17.792	10.84563	651.24451	6.59396	1.1662	0.93
60 BB	17.777	13.50388	810.86359	8.42006	1.1875	0.97
61 BB	17.779	14.52793	872.35413	8.92415	1.1684	0.95
62 BB	17.774	11.23947	674.89307	6.96439	1.1426	0.96
63 BB	17.775	11.49516	690.24646	7.10830	1.1369	0.97
64 BB	17.786	33.35905	2003.10132	20.60918	1.1679	0.99
65 BB	17.769	39.68179	2382.76074	24.47486	1.2738	0.96
66 BB	17.754	32.86278	1973.30212	20.28191	1.2231	0.89
67 BB	17.763	38.85002	2332.81592	24.07600	1.4144	0.94
68 BB	17.724	30.81461	1850.31604	19.32474	1.3091	0.95
69 BB	17.727	38.49172	2311.30103	24.21215	1.3377	0.95
70 BB	17.728	32.34633	1942.29053	20.42811	1.3293	0.93
71 BB	17.712	31.41969	1886.64893	19.94177	1.2218	0.98
72 BB	17.723	28.36147	1703.01318	18.07757	1.1571	0.98
73 BB	17.718	36.70738	2204.15723	23.41981	1.3320	0.95
74 BB	17.729	30.27054	1817.64661	19.06322	1.2464	0.97
75 BB	17.733	32.45397	1948.75391	20.47700	1.3283	0.94
76 BB	17.717	47.44119	2848.68726	30.00280	1.3657	0.94
77 BB	17.716	46.74981	2807.17261	29.63806	1.3670	0.95
78 BB	17.713	51.00809	3062.86816	32.36580	1.3901	0.95
79 BB	17.718	41.31561	2480.86670	26.19608	1.3589	0.95
80 BB	17.708	44.36012	2663.67920	28.17130	1.4151	0.94
81 BB	17.705	50.94429	3059.03687	32.32499	1.3661	0.93
82 BB	17.715	45.94364	2758.76465	29.21201	1.3658	0.96
83 BB	17.717	36.28894	2179.03149	23.03008	1.3179	0.94
84 BB	17.719	38.66358	2321.62109	24.50549	1.1793	0.98
85 BB	17.712	37.11964	2228.91211	23.53588	1.2629	0.93
86 BB	17.714	40.81490	2450.80078	25.95130	1.3258	0.95
87 BB	17.718	40.72012	2445.10913	25.77805	1.3106	0.94

Mean:	17.772	51.98659	3121.62403	32.37864	1.3535	0.95
S.D.:	0.043	22.51901	1352.19274	13.91876	0.1113	0.02
RSD :	0.243	43.31696	43.31696	42.98747	8.2259	1.85
95% CI:	0.010	5.36947	322.41888	3.31881	0.0265	4e-3

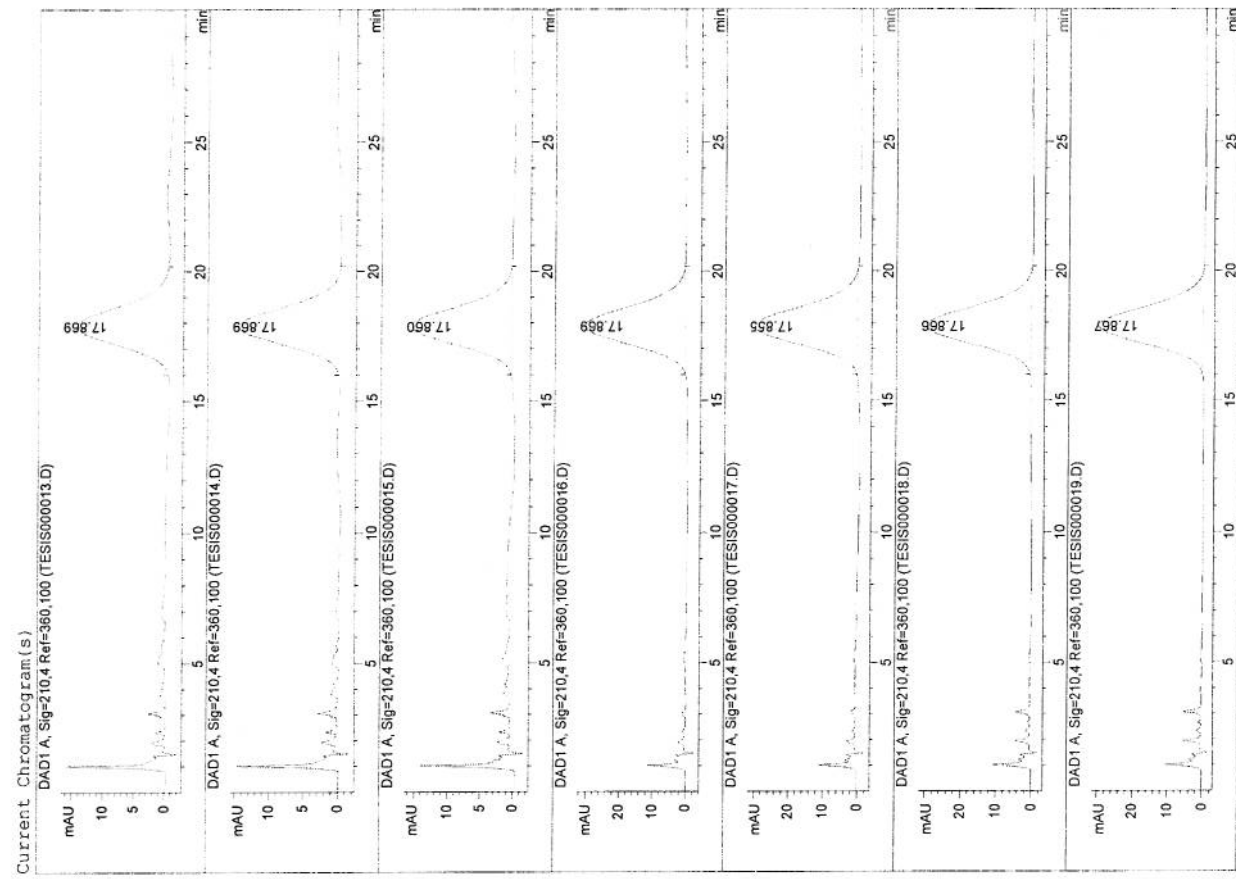
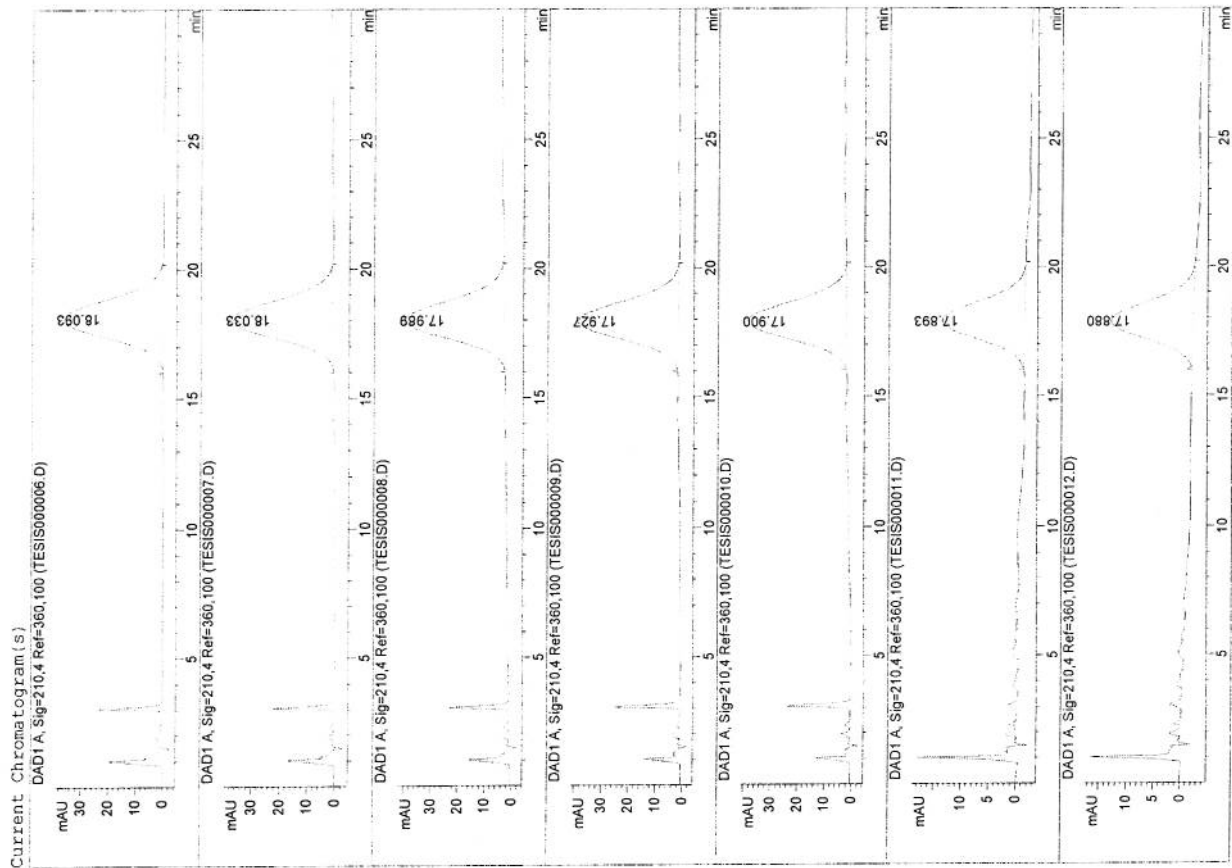
Sample Summary

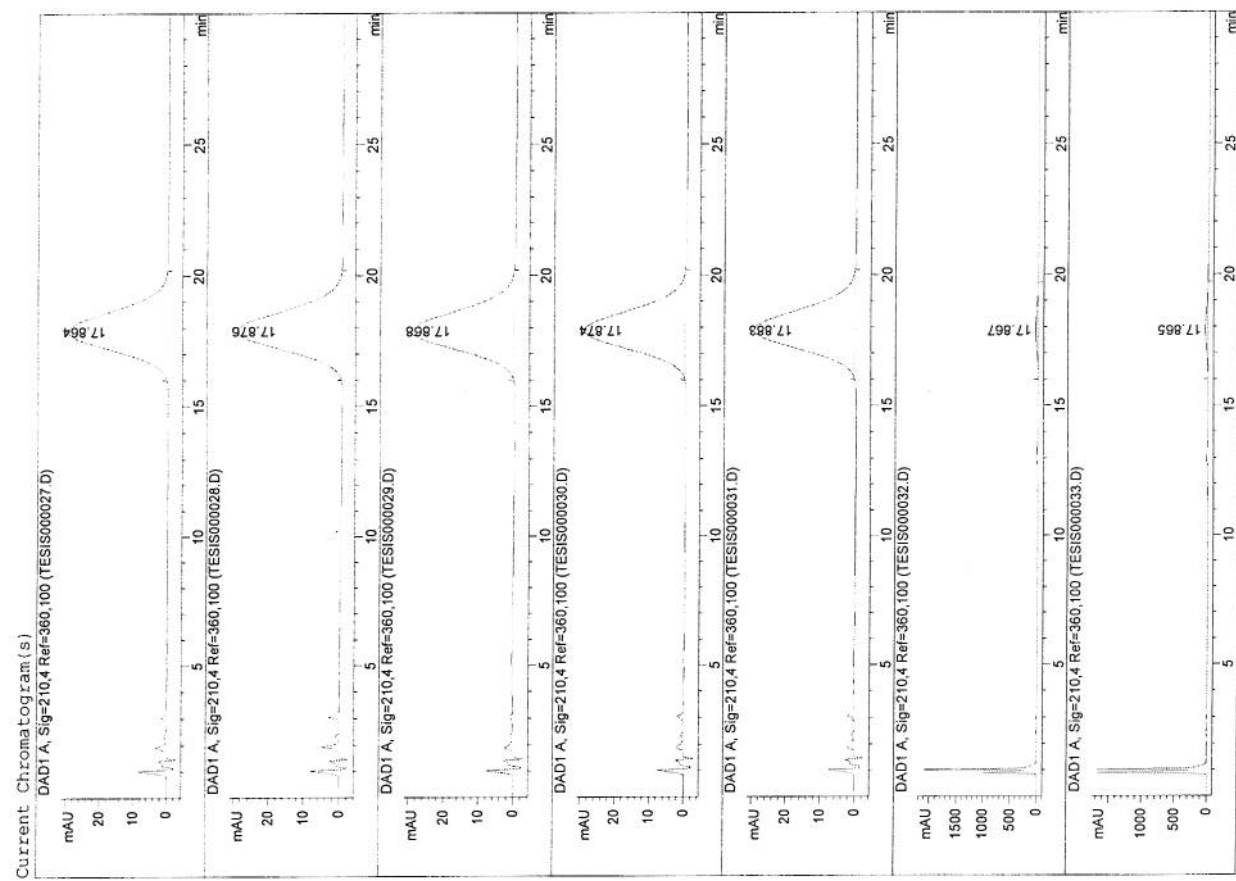
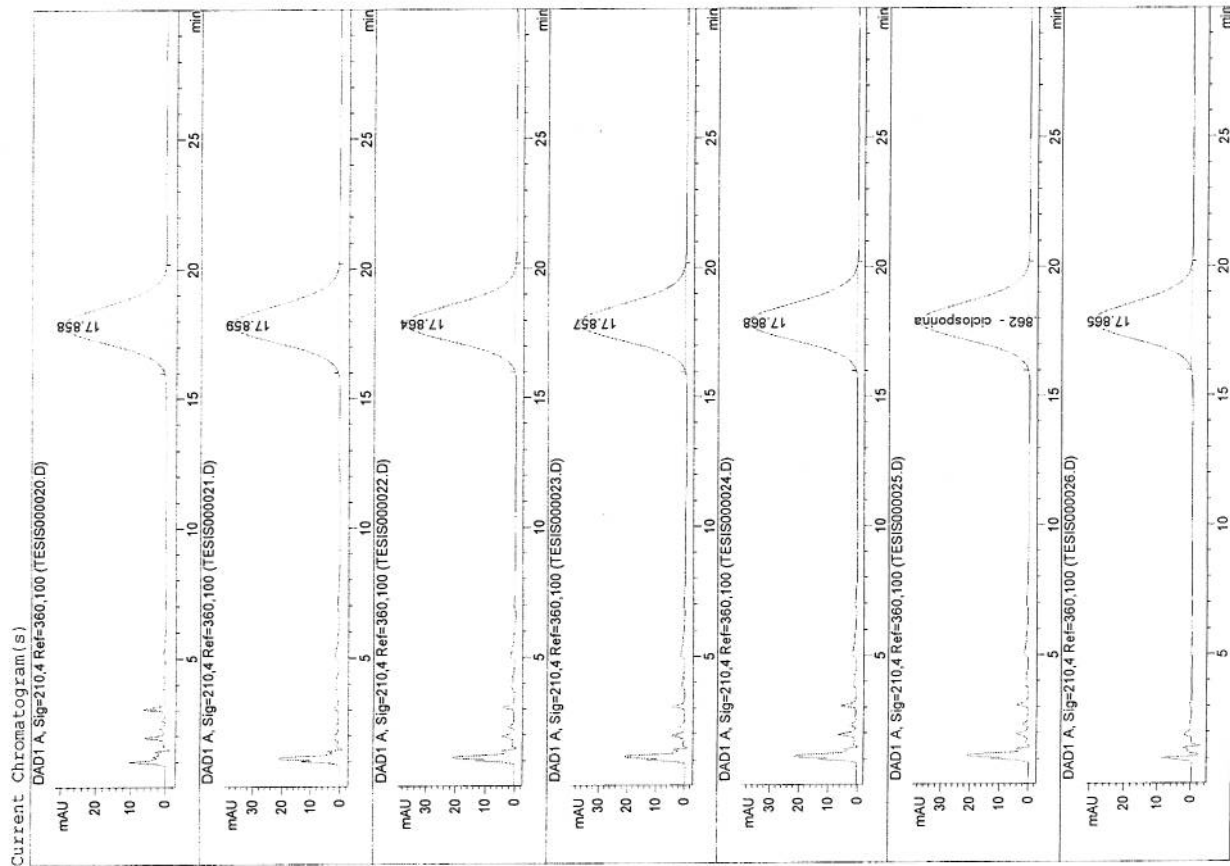
Sequence table: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2010-01-02 14-18-53\TESIS.S
Data directory path: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2010-01-02 14-18-53\TESIS.S
Logbook: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2010-01-02 14-18-53\TESIS.S
Sequence start: 1/2/2010 9:41:45 PM
Statistic report on calibration runs: 1
Statistic report on sample runs: 2
Operator: CCA

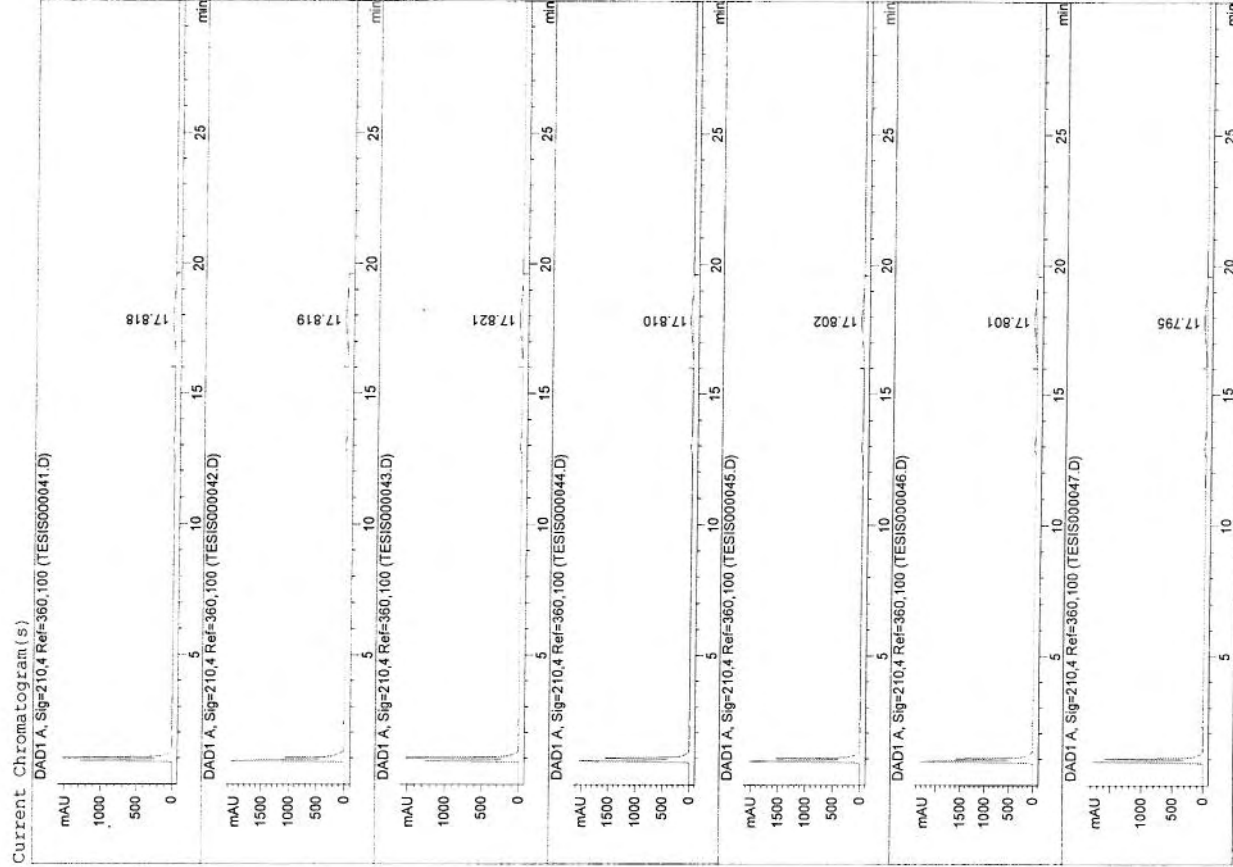
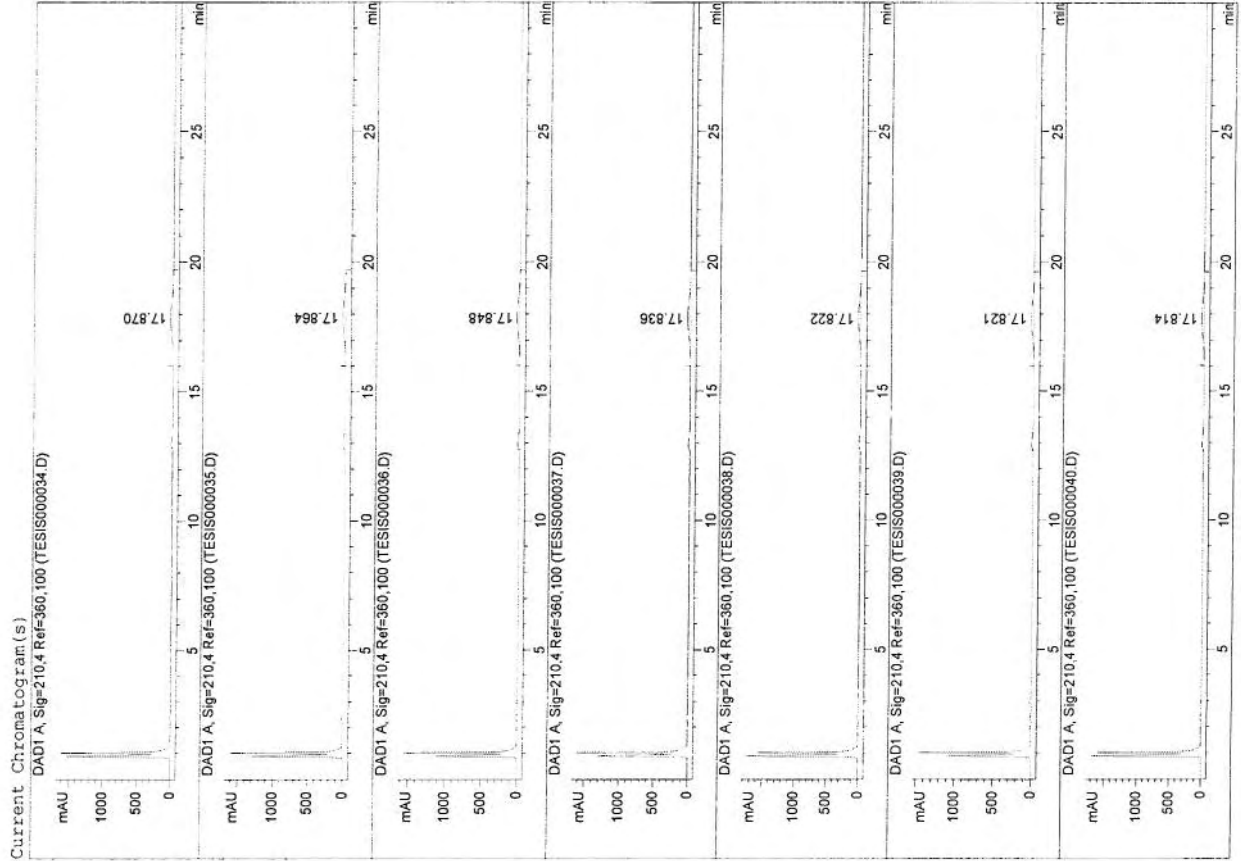
Method file name: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2010-01-02 14-18-53\TESIS.S

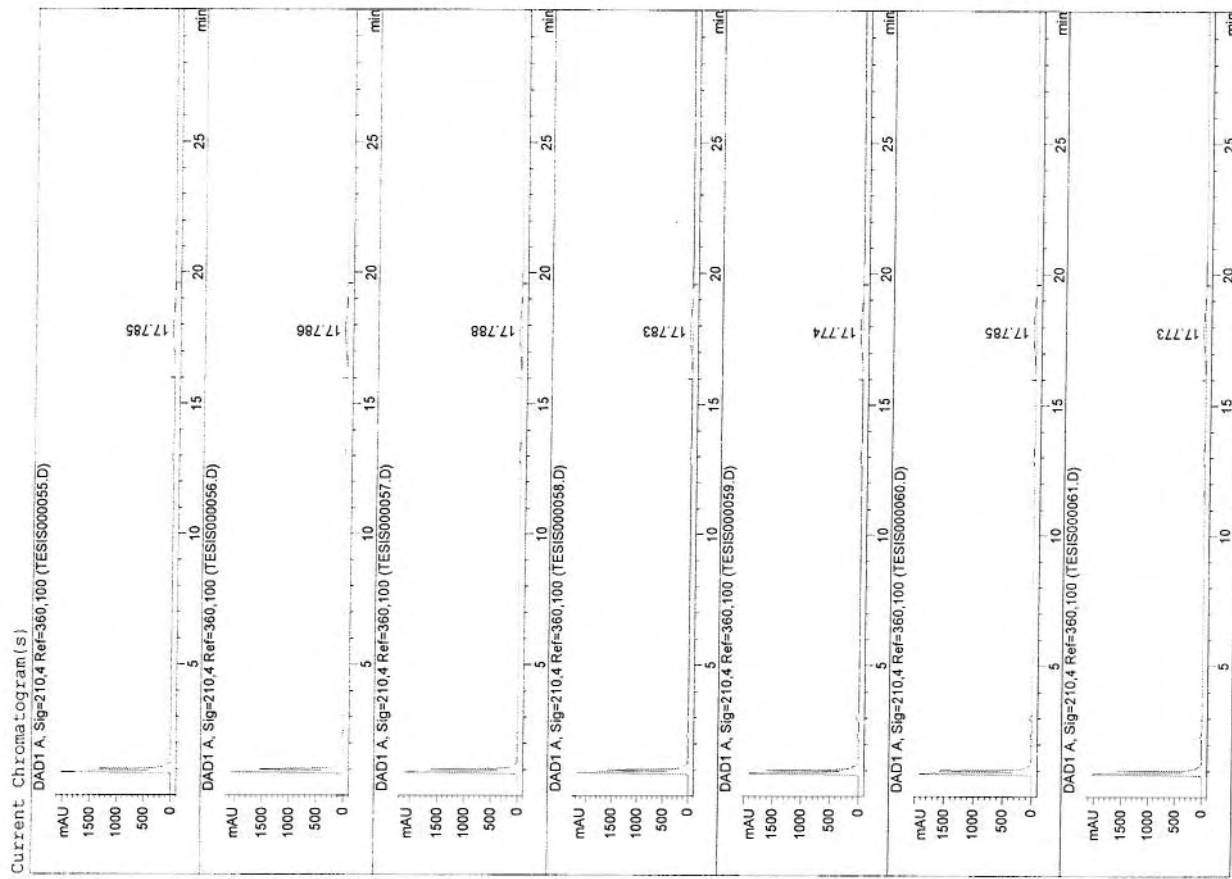
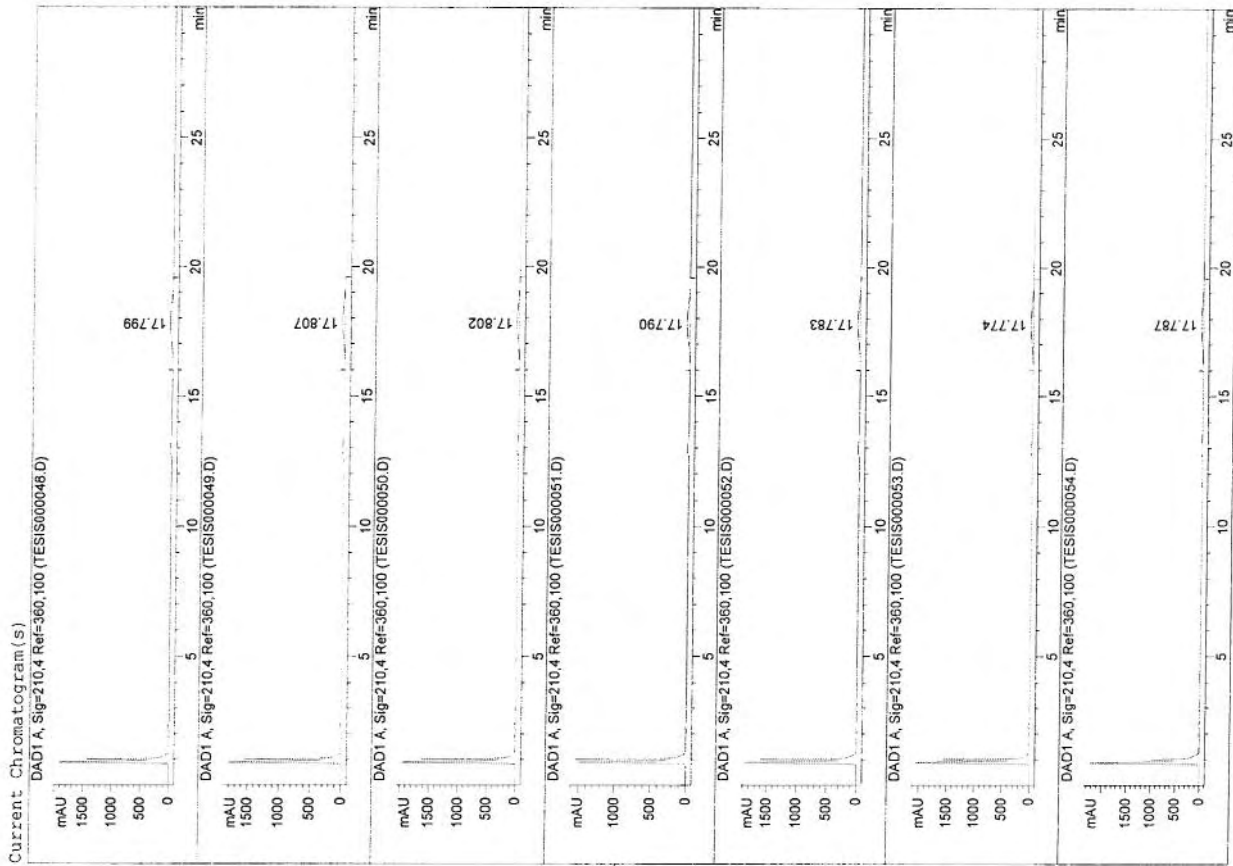
Run #	Location	Inj #	Sample Name	Sample Amt (%)	Multip.*	Dilution	File name	Cal #	Page
#									
1	Vial 2	1	ST1	-	1.0000	testis000011.D	*	1	-
2	Vial 2	1	ST1	-	1.0000	testis000012.D	*	1	-
3	Vial 2	1	ST1	-	1.0000	testis000013.D	*	1	-
4	Vial 2	1	ST1	-	1.0000	testis000014.D	*	1	-
5	Vial 2	1	ST1	-	1.0000	testis000015.D	*	1	-
6	Vial 3	1	ST2	-	1.0000	testis000016.D	*	1	-
7	Vial 3	1	ST2	-	1.0000	testis000017.D	*	1	-
8	Vial 3	1	ST2	-	1.0000	testis000018.D	*	1	-
9	Vial 3	1	ST2	-	1.0000	testis000019.D	*	1	-
10	Vial 3	1	ST2	-	1.0000	testis000020.D	*	1	-
11	Vial 4	1	ST3	-	1.0000	testis000021.D	*	1	-
12	Vial 4	1	ST3	-	1.0000	testis000022.D	*	1	-
13	Vial 4	1	ST3	-	1.0000	testis000023.D	*	1	-
14	Vial 4	1	ST3	-	1.0000	testis000024.D	*	1	-
15	Vial 4	1	ST3	-	1.0000	testis000025.D	*	1	-
16	Vial 11	1	NEOVAS1-15MIN	-	2.000e3	testis000032.D	1	1	-
17	Vial 12	1	NEOVAS2-15MIN	-	2.000e3	testis000033.D	1	1	-
18	Vial 13	1	NEOVAS3-15MIN	-	2.000e3	testis000034.D	1	1	-
19	Vial 14	1	NEOVAS4-15MIN	-	2.000e3	testis000035.D	1	1	-
20	Vial 15	1	NEOVAS5-15MIN	-	2.000e3	testis000036.D	1	1	-
21	Vial 16	1	NEOVAS6-15MIN	-	2.000e3	testis000037.D	1	1	-
22	Vial 17	1	NEOVAS7-15MIN	-	2.000e3	testis000038.D	1	1	-
23	Vial 18	1	NEOVAS8-15MIN	-	2.000e3	testis000039.D	1	1	-
24	Vial 19	1	NEOVAS9-15MIN	-	2.000e3	testis000040.D	1	1	-
25	Vial 20	1	NEOVAS10-15MIN	-	2.000e3	testis000041.D	1	1	-
26	Vial 21	1	NEOVAS11-15MIN	-	2.000e3	testis000042.D	1	1	-
27	Vial 22	1	NEOVAS12-15MIN	-	2.000e3	testis000043.D	1	1	-
28	Vial 23	1	NEOVAS1-30MIN	-	2.000e3	testis000044.D	1	1	-
29	Vial 24	1	NEOVAS2-30MIN	-	2.000e3	testis000045.D	1	1	-
30	Vial 25	1	NEOVAS3-30MIN	-	2.000e3	testis000046.D	1	1	-
31	Vial 26	1	NEOVAS4-30MIN	-	2.000e3	testis000047.D	1	1	-
32	Vial 27	1	NEOVAS5-30MIN	-	2.000e3	testis000048.D	1	1	-
33	Vial 28	1	NEOVAS6-30MIN	-	2.000e3	testis000049.D	1	1	-
34	Vial 29	1	NEOVAS7-30MIN	-	2.000e3	testis000050.D	1	1	-
35	Vial 30	1	NEOVAS8-30MIN	-	2.000e3	testis000051.D	1	1	-
36	Vial 31	1	NEOVAS9-30MIN	-	2.000e3	testis000052.D	1	1	-
37	Vial 32	1	NEOVAS10-30MIN	-	2.000e3	testis000053.D	1	1	-
38	Vial 33	1	NEOVAS11-30MIN	-	2.000e3	testis000054.D	1	1	-
39	Vial 34	1	NEOVAS12-30MIN	-	2.000e3	testis000055.D	1	1	-
40	Vial 35	1	NEOVAS1-45MIN	-	2.000e3	testis000056.D	1	1	-
41	Vial 36	1	NEOVAS2-45MIN	-	2.000e3	testis000057.D	1	1	-
42	Vial 37	1	NEOVAS3-45MIN	-	2.000e3	testis000058.D	1	1	-
43	Vial 38	1	NEOVAS4-45MIN	-	2.000e3	testis000059.D	1	1	-
44	Vial 39	1	NEOVAS5-45MIN	-	2.000e3	testis000060.D	1	1	-
45	Vial 40	1	NEOVAS6-45MIN	-	2.000e3	testis000061.D	1	1	-
46	Vial 41	1	NEOVAS7-45MIN	-	2.000e3	testis000062.D	1	1	-
47	Vial 42	1	NEOVAS8-45MIN	-	2.000e3	testis000063.D	1	1	-
48	Vial 43	1	NEOVAS9-45MIN	-	2.000e3	testis000064.D	1	1	-
49	Vial 44	1	NEOVAS10-45MIN	-	2.000e3	testis000065.D	1	1	-

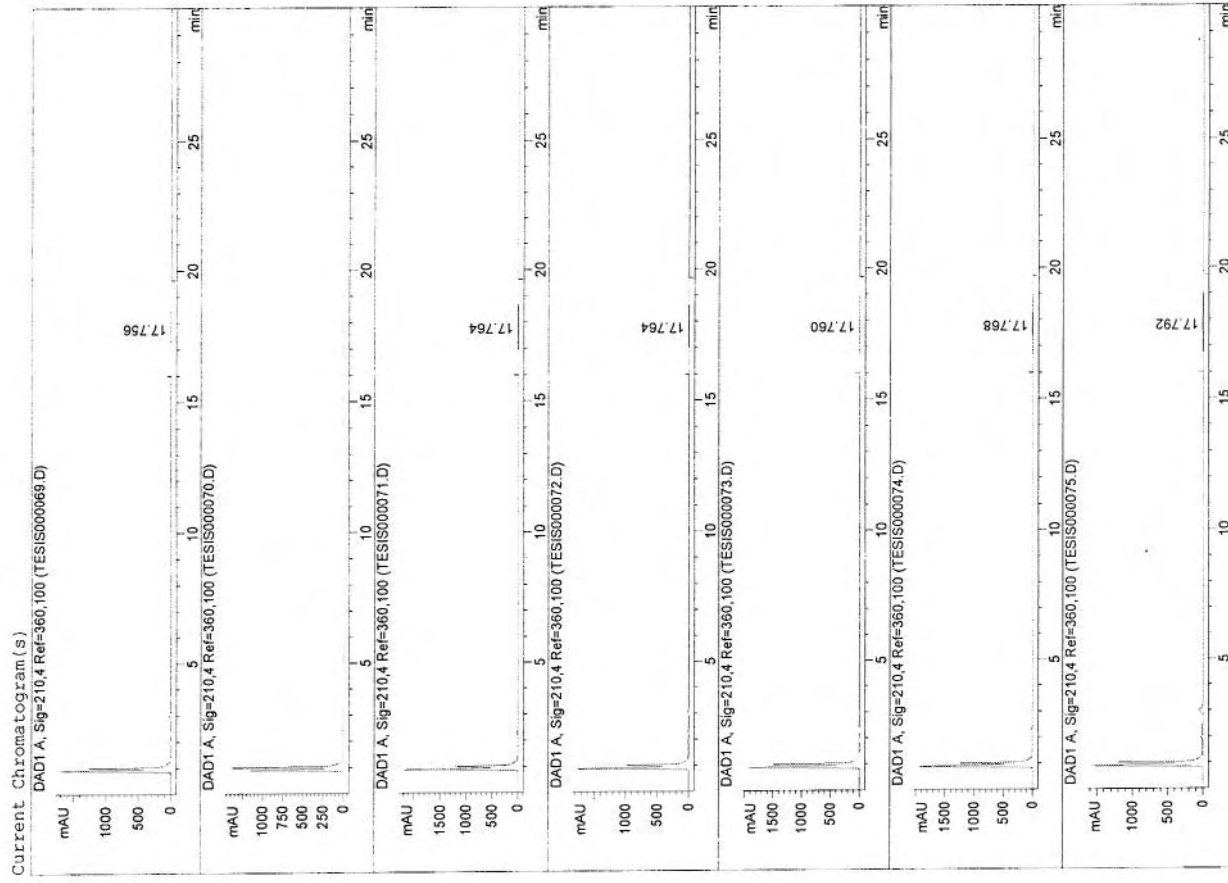
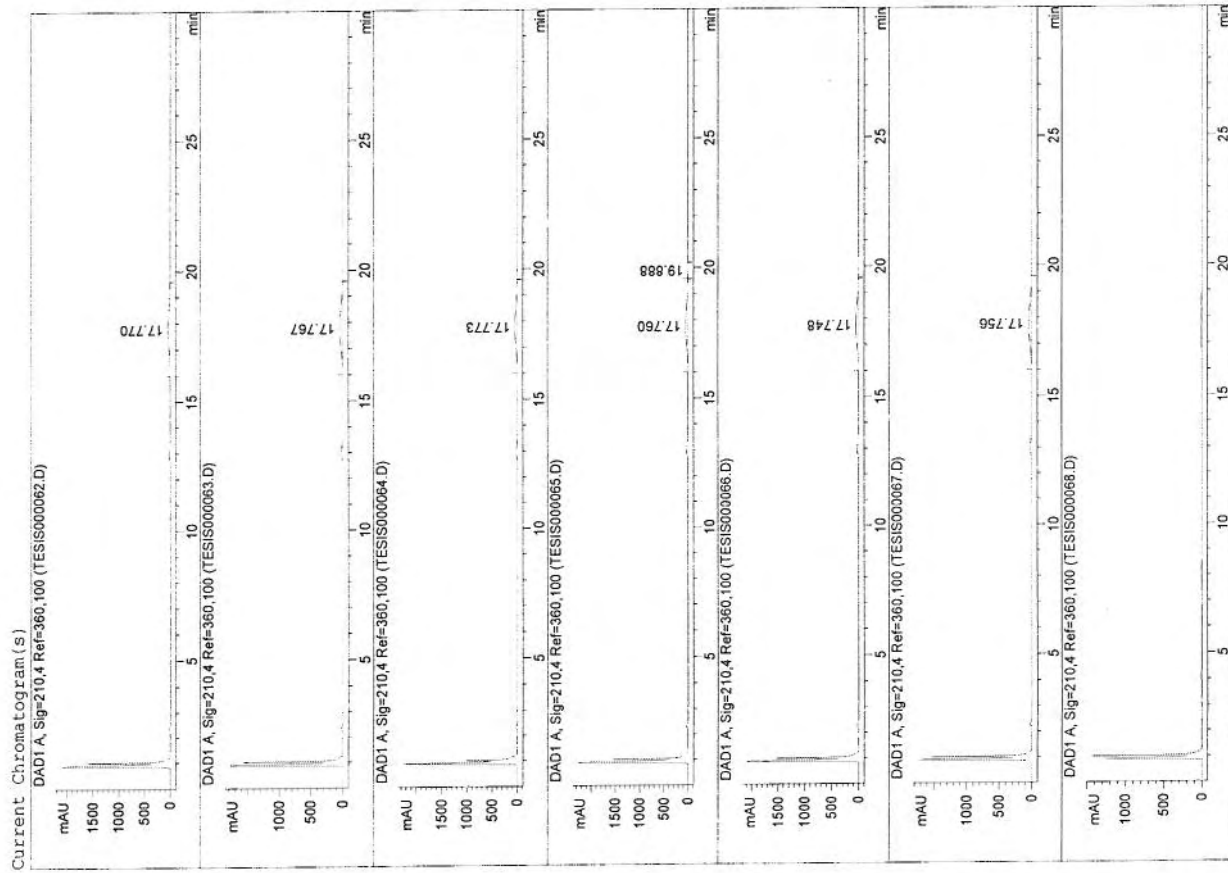
Run #	Location	Inj #	Sample Name	Sample Amt (%)	Multip.*	Dilution	File name	Cal #	Page
#									
50	Vial 45	1	NEOVAS11-45MIN	-	2.000e3	testis000066.D	1	1	-
51	Vial 46	1	NEOVAS12-45MIN	-	2.000e3	testis000067.D	1	1	-
52	Vial 47	1	SUPVAS1-15MIN	-	2.000e3	testis000068.D	0	0	-
53	Vial 48	1	SUPVAS2-15MIN	-	2.000e3	testis000069.D	1	1	-
54	Vial 49	1	SUPVAS3-15MIN	-	2.000e3	testis000070.D	0	0	-
55	Vial 50	1	SUPVAS4-15MIN	-	2.000e3	testis000071.D	1	1	-
56	Vial 51	1	SUPVAS5-15MIN	-	2.000e3	testis000072.D	1	1	-
57	Vial 52	1	SUPVAS6-15MIN	-	2.000e3	testis000073.D	1	1	-
58	Vial 53	1	SUPVAS7-15MIN	-	2.000e3	testis000074.D	1	1	-
59	Vial 54	1	SUPVAS8-15MIN	-	2.000e3	testis000075.D	1	1	-
60	Vial 55	1	SUPVAS9-15MIN	-	2.000e3	testis000076.D	1	1	-
61	Vial 56	1	SUPVAS10-15MIN	-	2.000e3	testis000077.D	1	1	-
62	Vial 57	1	SUPVAS11-15MIN	-	2.000e3	testis000078.D	1	1	-
63	Vial 58	1	SUPVAS12-15MIN	-	2.000e3	testis000079.D	1	1	-
64	Vial 59	1	SUPVAS1-30MIN	-	2.000e3	testis000080.D	1	1	-
65	Vial 60	1	SUPVAS2-30MIN	-	2.000e3	testis000081.D	1	1	-
66	Vial 61	1	SUPVAS3-30MIN	-	2.000e3	testis000082.D	1	1	-
67	Vial 62	1	SUPVAS4-30MIN	-	2.000e3	testis000083.D	1	1	-
68	Vial 63	1	SUPVAS5-30MIN	-	2.000e3	testis000084.D	1	1	-
69	Vial 64	1	SUPVAS6-30MIN	-	2.000e3	testis000085.D	1	1	-
70	Vial 65	1	SUPVAS7-30MIN	-	2.000e3	testis000086.D	1	1	-
71	Vial 66	1	SUPVAS8-30MIN	-	2.000e3	testis000087.D	1	1	-
72	Vial 67	1	SUPVAS9-30MIN	-	2.000e3	testis000088.D	1	1	-
73	Vial 68	1	SUPVAS10-30MIN	-	2.000e3	testis000089.D	1	1	-
74	Vial 69	1	SUPVAS11-30MIN	-	2.000e3	testis000090.D	1	1	-
75	Vial 70	1	SUPVAS12-30MIN	-	2.000e3	testis000091.D	1	1	-
76	Vial 71	1	SUPVAS1-45MIN	-	2.000e3	testis000092.D	1	1	-
77	Vial 72	1	SUPVAS2-45MIN	-	2.000e3	testis000093.D	1	1	-
78	Vial 73	1	SUPVAS3-45MIN	-	2.000e3	testis000094.D	1	1	-
79	Vial 74	1	SUPVAS4-45MIN	-	2.000e3	testis000095.D	1	1	-
80	Vial 75	1	SUPVAS5-45MIN	-	2.000e3	testis000096.D	1	1	-
81	Vial 76	1	SUPVAS6-45MIN	-	2.000e3	testis000097.D	1	1	-
82	Vial 77	1	SUPVAS7-45MIN	-	2.000e3	testis000098.D	1	1	-
83	Vial 78	1	SUPVAS8-45MIN	-	2.000e3	testis000099.D	1	1	-
84	Vial 79	1	SUPVAS9-45MIN	-	2.000e3	testis000100.D	1	1	-
85	Vial 80	1	SUPVAS10-45MIN	-	2.000e3	testis000101.D	1	1	-
86	Vial 81	1	SUPVAS11-45MIN	-	2.000e3	testis000102.D	1	1	-
87	Vial 82	1	SUPVAS12-45MIN	-	2.000e3	testis000103.D	1	1	-

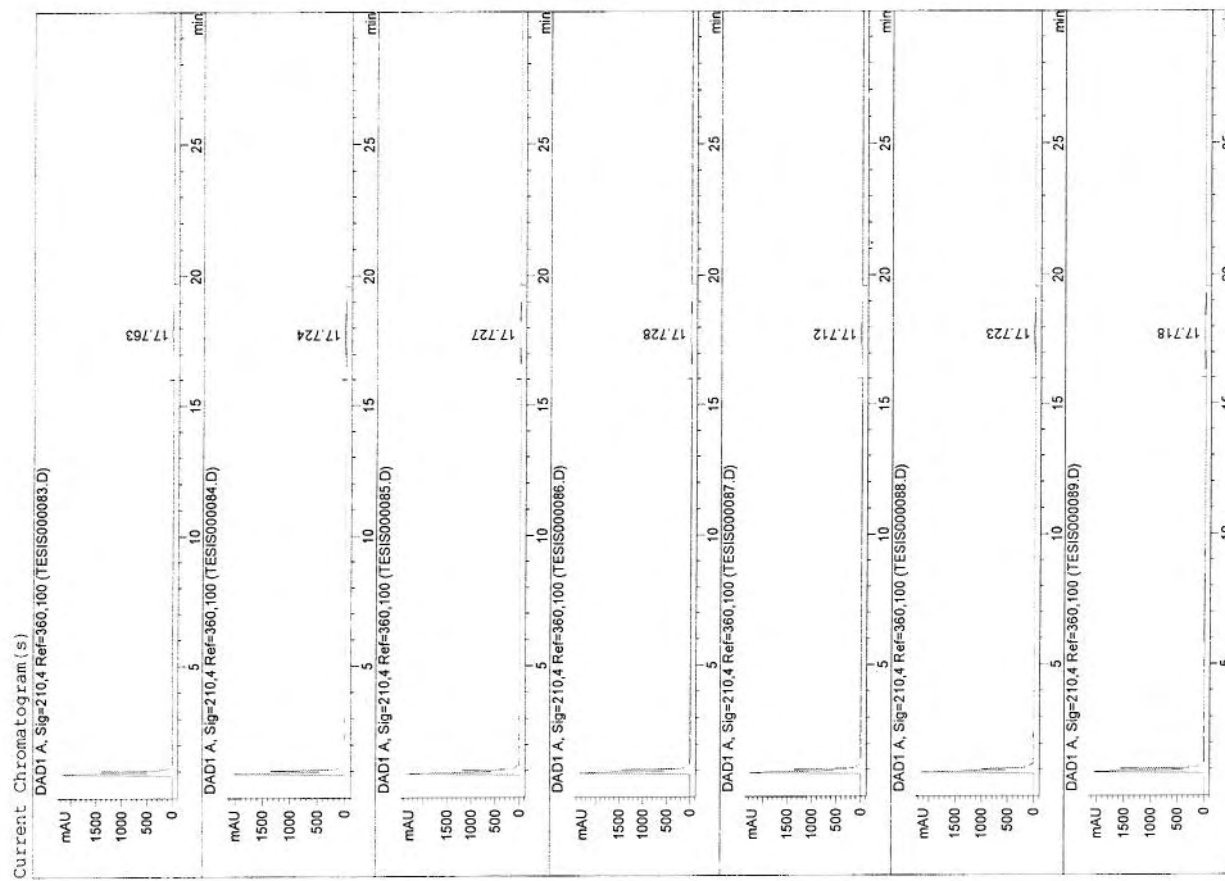
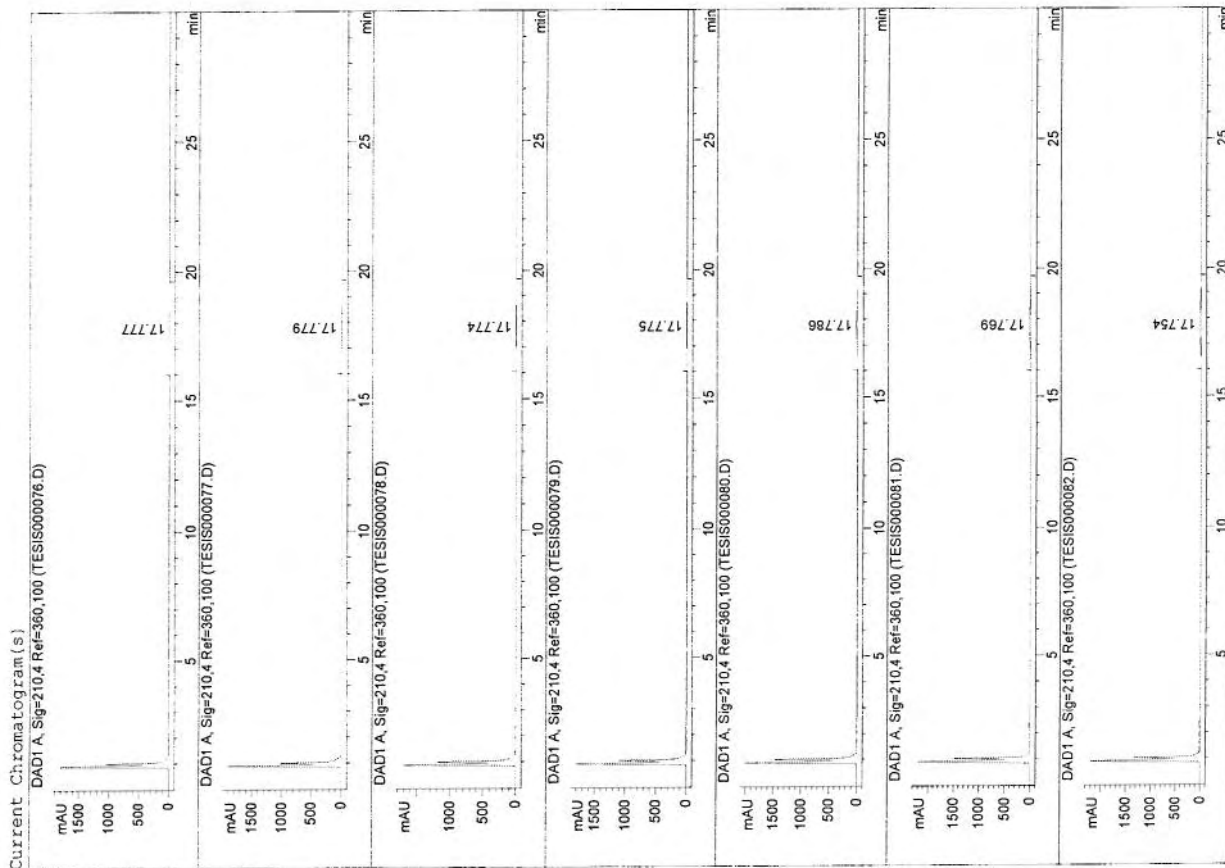


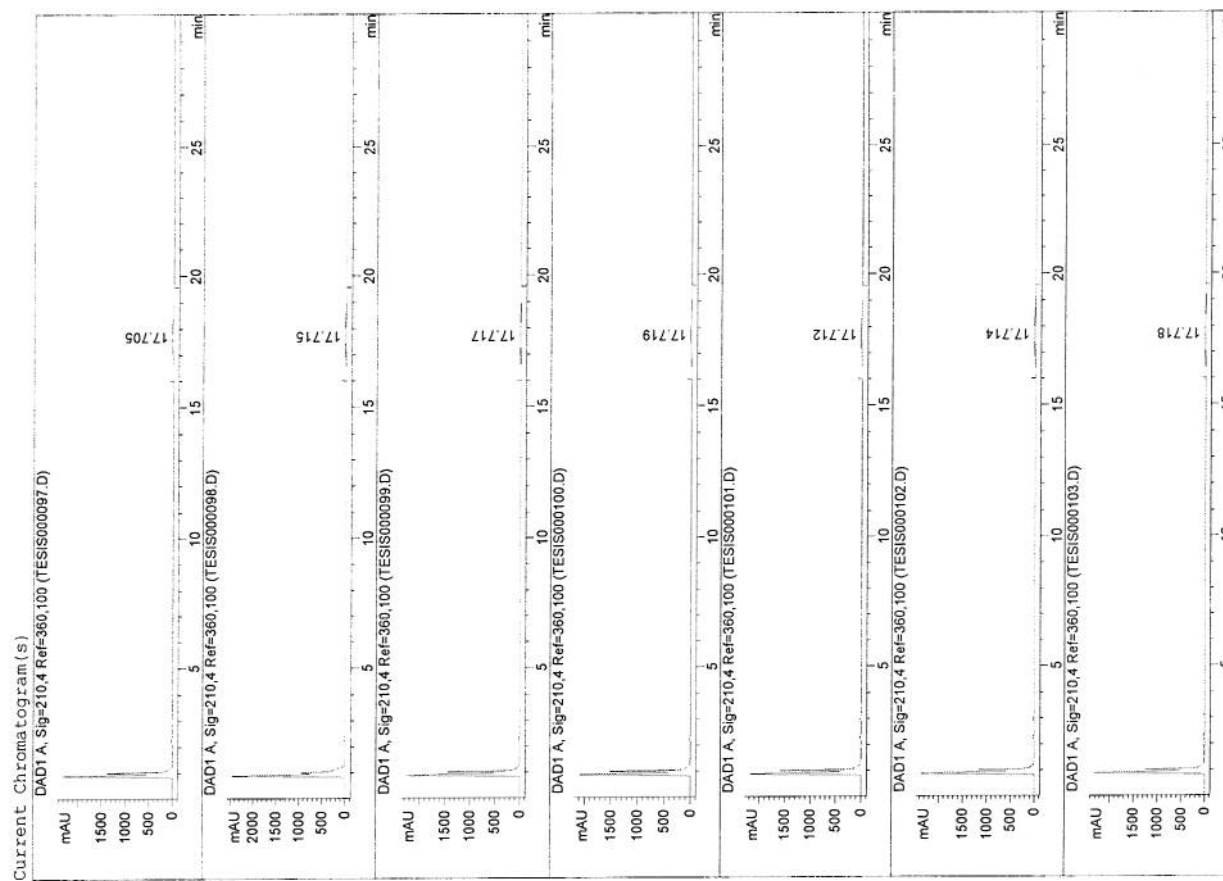
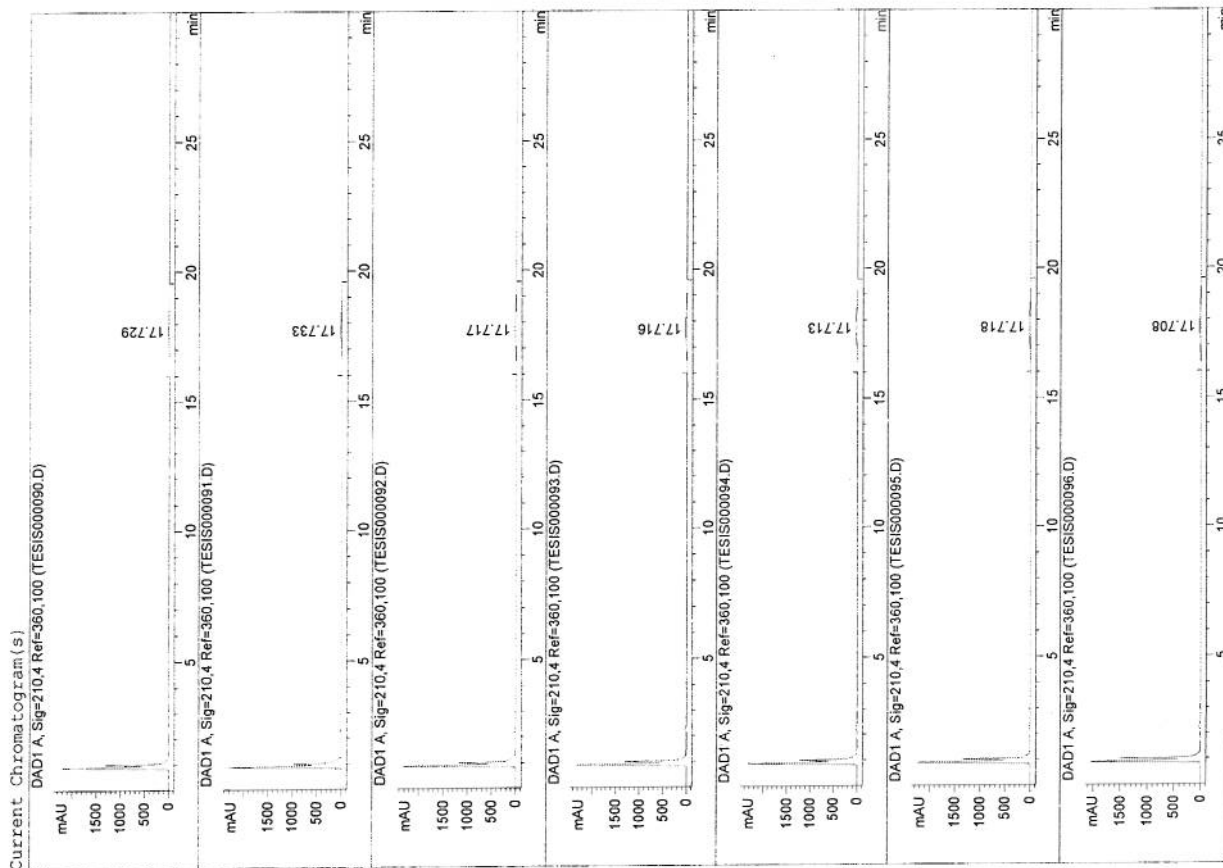












S t a t i s t i c R e p o r t

Sequence table: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2010-01-02 14-18-53\TESIS.S
Data directory path: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2010-01-02 14-18-53\
Operator: CCA

Method file name: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2010-01-02 14-18-53\CICLOSPORINA.M

Run Location	Inj #	Inj. Date/Time	File Name	Sample Name
1 Vial 1	1	1/2/2010 6:55:44 PM	tesis000006.D	ST
2 Vial 1	1	1/2/2010 7:28:57 PM	tesis000007.D	ST
3 Vial 1	1	1/2/2010 8:02:10 PM	tesis000008.D	ST
4 Vial 1	1	1/2/2010 8:35:21 PM	tesis000009.D	ST
5 Vial 1	1	1/2/2010 9:08:32 PM	tesis000010.D	ST

Compound: ciclosporina (Signal: DAD1 A, Sig=210,4 Ref=360,100)

Run Type	RetTime [min]	Amount [ng/ul]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Width [min]	Symm.
1 BBA	18.093	2.98220e-2	3643.28442	36.50476	1.4564	0.92
2 BBA	18.033	2.98773e-2	3656.82373	36.51562	1.4883	0.92
3 BBA	17.989	3.00629e-2	3694.45923	36.47437	1.4517	0.90
4 BBA	17.927	2.99789e-2	3690.60400	36.72428	1.4544	0.90
5 BBA	17.900	2.95379e-2	3627.67798	36.21303	1.3587	0.90
Mean:	17.988	2.98558e-2	3662.56987	36.48641	1.4419	0.91
S.D.:	0.078	2.00437e-4	29.26275	1.82107e-1	0.0488	10e-3
RSD :	0.434	6.71349e-1	7.98968e-1	4.99109e-1	3.3867	1.06
95% CI:	0.097	2.48875e-4	36.33450	2.26116e-1	0.0606	0.01

S t a t i s t i c R e p o r t

Sequence table: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2010-01-02 14-18-53\TESIS.S
Data directory path: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2010-01-02 14-18-53\
Operator: CCA

Method file name: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2010-01-02 14-18-53\CICLOSPORINA.M

Run Location	Inj #	Inj. Date/Time	File Name	Sample Name
6 Vial 3	1	1/3/2010 12:27:45 AM	tesis000016.D	ST2
7 Vial 3	1	1/3/2010 1:01:00 AM	tesis000017.D	ST2
8 Vial 3	1	1/3/2010 1:34:13 AM	tesis000018.D	ST2
9 Vial 5	1	1/3/2010 5:59:58 AM	tesis000026.D	M2
10 Vial 5	1	1/3/2010 6:33:12 AM	tesis000027.D	M2
11 Vial 5	1	1/3/2010 7:06:25 AM	tesis000028.D	M2
12 Vial 6	1	1/3/2010 7:39:39 AM	tesis000029.D	M3
13 Vial 6	1	1/3/2010 8:12:51 AM	tesis000030.D	M3
14 Vial 6	1	1/3/2010 8:46:04 AM	tesis000031.D	M3

Compound: ciclosporina (Signal: DAD1 A, Sig=210,4 Ref=360,100)

Run Type	RetTime [min]	Amount [ng/ul]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Width [min]	Symm.
6 BBA	17.869	7.97583e-1	3009.16846	29.79120	1.4384	0.91
7 BBA	17.855	7.85142e-1	2962.22974	29.53736	1.4480	0.90
8 BBA	17.866	7.74553e-1	2922.27930	29.18593	1.4141	0.91
9 BBA	17.865	7.78008e-1	2950.59961	29.32390	1.3919	0.90
10 BBA	17.864	7.78102e-1	2950.93801	29.27074	1.3722	0.88
11 BBA	17.876	7.81461e-1	2963.69556	29.36375	1.4375	0.91
12 BBA	17.868	7.75070e-1	2939.45947	29.10903	1.4001	0.90
13 BBA	17.874	7.71667e-1	2926.55347	29.01074	1.3929	0.90
14 BBA	17.883	7.73914e-1	2935.07422	28.96718	1.2461	0.87

Mean: 17.869 7.79500e-1 2951.11309 29.28443 1.3935 0.90
S.D.: 7.97e-3 7.9347e-3 26.17305 2.60972e-1 0.0608 0.01
RSD : 0.045 1.01776 8.86887e-1 8.91162e-1 4.3636 1.37
95% CI: 6.12e-3 6.09820e-3 20.11838 2.00600e-1 0.0467 9e-3

Sample Summary

Sequence table: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESTS 2010-01-02 14-18-53\TESTS.S Page
Data directory path: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESTS 2010-01-02 14-18-53\ Logbook:
C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESTS 2010-01-02 14-18-53\TESTS.LOG
Sequence start: 1/2/2010 6:55:44 PM
Statistic report on calibration runs: 1
Statistic report on sample runs: 2
Operator: CCA

Method file name: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESTS 2010-01-02 14-18-53\CICLOSPORINA.M

Run #	Location	Inj #	Sample Name	Sample Amt [ng/ul]	Multip. Dilution	File name	Cal #	Page
1	Vial 1	1	ST	-	1.0000	tesis000006.D	*	1 -
2	Vial 1	1	ST	-	1.0000	tesis000007.D	*	1 -
3	Vial 1	1	ST	-	1.0000	tesis000008.D	*	1 -
4	Vial 1	1	ST	-	1.0000	tesis000009.D	*	1 -
5	Vial 1	1	ST	-	1.0000	tesis000010.D	*	1 -
6	Vial 3	1	ST2	-	32.5521	tesis000016.D		1 -
7	Vial 3	1	ST2	-	32.5521	tesis000017.D		1 -
8	Vial 3	1	ST2	-	32.5521	tesis000018.D		1 -
9	Vial 5	1	M2	-	32.3834	tesis000026.D		1 -
10	Vial 5	1	M2	-	32.3834	tesis000027.D		1 -
11	Vial 5	1	M2	-	32.3834	tesis000028.D		1 -
12	Vial 6	1	M3	-	32.3834	tesis000029.D		1 -
13	Vial 6	1	M3	-	32.3834	tesis000030.D		1 -
14	Vial 6	1	M3	-	32.3834	tesis000031.D		1 -

Calibration Table

Calib. Data Modified : Saturday, January 09, 2010 12:49:56 PM

Calculate : External Standard
Based on : Peak AreaRel. Reference Window : 5.000 %
Abs. Reference Window : 0.000 min
Rel. Non-ref. Window : 5.000 %
Abs. Non-ref. Window : 0.000 minDo not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
using compound ciclosporina
Uncalibrated Peaks : Yes, identified peaks are recalibrated
Partial Calibration : No, only for identified peaks
Correct All Ret. Times:Curve Type : Linear
Origin : Forced
Weight : EqualRecalibration Settings:
Average Response : Average all calibrations
Average Retention Time : Floating Average New 75%Calibration Report Options :
Printout of recalibrations within a sequence:
Calibration Table after Recalibration
Normal Report after Recalibration
If the sequence is done with bracketing:
Results of first cycle (ending previous bracket)

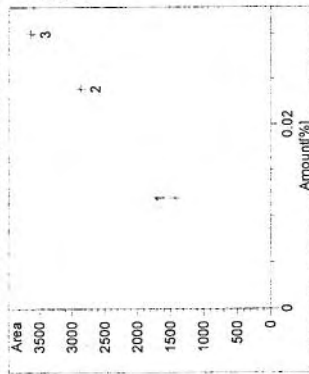
Signal 1: DAD1 A, Sig=210,4 Ref=360,100

RetTime	Lvl	Amount	Area	Amt/Area	Ref Grp Name
18.060	1	1.20040e-2	1440.45422	8.33348e-6	ciclosporina
2	2.40086e-2	2864.26528	8.38211e-6		
3	3.00110e-2	3631.37012	8.26437e-6		

Peak Sum Table

No Entries in table

Calibration Curves

ciclosporina at exp. RT: 18.060
DAD1 A, Sig=210,4 Ref=360,100
Correlation: 0.99998
Residual Std. Dev.: 22.69969
Formula: $y = mx$
m: 120307.78978
x: Amount
y: Area

Statistical Report

Sequence table: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\CICLOSPORINA 2009-12-19 16-29-55\CICLOSPORINA.S
Data directory path: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\CICLOSPORINA 2009-12-19 16-29-55\CICLOSPORINA.S
Operator: CCA

Method file name: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\CICLOSPORINA 2009-12-19 16-29-55\CICLOSPORINA.S

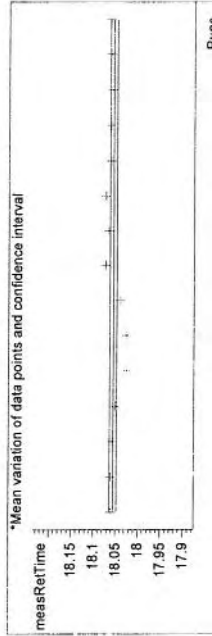
Run #	Location	Inj #	Inj. Date/Time	File Name	Sample Name
1	Vial 1	1	12/19/2009 6:09:43 PM	cic000004.D	ST
2	Vial 1	1	12/19/2009 6:42:57 PM	cic000005.D	ST
3	Vial 1	1	12/19/2009 7:16:09 PM	cic000006.D	ST
4	Vial 1	1	12/19/2009 7:46:52 PM	cic000007.D	ST
5	Vial 1	1	12/19/2009 8:17:35 PM	cic000008.D	ST
6	Vial 2	1	12/19/2009 8:48:17 PM	cic000009.D	ST
7	Vial 2	1	12/19/2009 9:18:59 PM	cic000010.D	ST
8	Vial 2	1	12/19/2009 9:49:43 PM	cic000011.D	ST
9	Vial 2	1	12/19/2009 10:20:26 PM	cic000012.D	ST
10	Vial 2	1	12/19/2009 10:51:09 PM	cic000013.D	ST
11	Vial 3	1	12/19/2009 11:21:51 PM	cic000014.D	ST
12	Vial 3	1	12/19/2009 11:52:34 PM	cic000015.D	ST
13	Vial 3	1	12/20/2009 12:23:16 AM	cic000016.D	ST
14	Vial 3	1	12/20/2009 12:54:00 AM	cic000017.D	ST
15	Vial 3	1	12/20/2009 1:24:43 AM	cic000018.D	ST

Compound: ciclosporina (Signal: DAD1 A, Sig=210, 4 Ref=360,100)

Run #	RetTime [min]
1	18.06070
2	18.06103
3	18.05710
4	18.05032
5	18.02520
6	18.02520
7	18.03937
8	18.07270
9	18.06576
10	18.07270
11	18.06028
12	18.06187
13	18.05615
14	18.06038
15	18.06270

Mean: 18.05543
S.D.: 0.01469
RSD: 0.08134
95% CI: 0.00813

Mean variation of data points and confidence interval



Run #	Peak area [mAU*s]
1	2842.80786
2	3170.52393
3	2778.42261
4	2693.01440
5	2836.55762
6	1440.45422
7	1424.46594
8	1436.00354
9	1447.16858
10	1450.74817
11	3631.37012
12	3639.58667
13	3638.44800
14	3643.09692
15	3631.26538

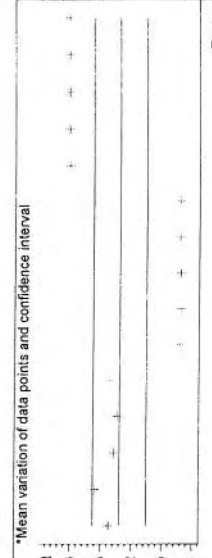
Mean: 2646.92893
S.D.: 946.92650
RSD: 35.77453
95% CI: 524.39029

Run #	Peak height [mAU]
1	29.84758
2	32.71886
3	29.23252
4	28.61333
5	29.71428
6	14.93847
7	14.81430
8	14.84717
9	14.87965
10	14.87233
11	37.45891
12	37.37345
13	37.54227
14	37.45303
15	37.40956

Mean: 27.44771
S.D.: 9.76206
RSD: 35.56602
95% CI: 5.40605

Run #	Amount [%]
1	0.02369
2	0.02590
3	0.02291
4	0.02237
5	0.02358
6	0.01197
7	0.01184
8	0.01194
9	0.01203
10	0.01206
11	0.03019
12	0.03024

Mean variation of data points and confidence interval



Run #	Amount [%]
13	0.03023
14	0.03026
15	0.03016

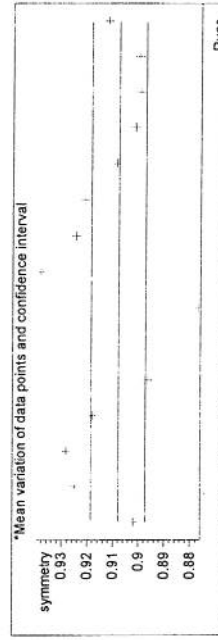
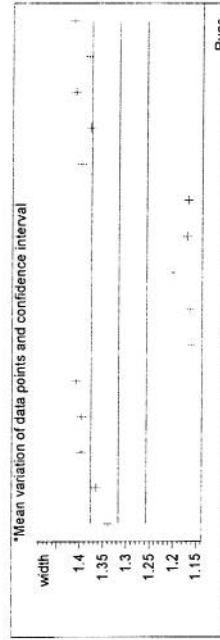
Mean: 0.02196
S.D.: 0.00785
RSD : 35.73575
95% CI: 0.00435

Run #	Peakwidth at half height [min]
1	1.33918
2	1.36452
3	1.39687
4	1.39604
5	1.40771
6	1.16097
7	1.16381
8	1.20039
9	1.17068
10	1.16805
11	1.39700
12	1.37815
13	1.41069
14	1.38283
15	1.41446

Mean: 1.31676
S.D.: 0.10736
RSD : 8.15325
95% CI: 0.05945

Run #	Peak symmetry
1	0.90197
2	0.92505
3	0.92819
4	0.91794
5	0.89643
6	0.86728
7	0.87685
8	0.93838
9	0.92451
10	0.92117
11	0.90859
12	0.90144
13	0.89956
14	0.89995
15	0.91205

Mean: 0.90796
S.D.: 0.01920
RSD : 2.11449
95% CI: 0.01063



Statistic Report

Sequence table: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\CICLOSPORINA 2009-12-19 16-29-55\CICLOSPORINA.S
Data directory path: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\CICLOSPORINA 2009-12-19 16-29-55\CCA
Operator: CCA

Method file name: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\CICLOSPORINA 2009-12-19 16-29-55\CICLOSPORINA.S

Run #	Location	Inj #	Inj. Date/Time	File Name	Sample Name
16	Vial 11	1	12/20/2009 1:55:26 AM	cic000019.D	NEOVAS1-15MIN
17	Vial 12	1	12/20/2009 2:26:09 AM	cic000020.D	NEOVAS2-15MIN
18	Vial 13	1	12/20/2009 2:56:52 AM	cic000021.D	NEOVAS3-15MIN
19	Vial 14	1	12/20/2009 3:27:35 AM	cic000022.D	NEOVAS4-15MIN
20	Vial 15	1	12/20/2009 3:58:18 AM	cic000023.D	NEOVAS5-15MIN
21	Vial 16	1	12/20/2009 4:29:00 AM	cic000024.D	NEOVAS6-15MIN
22	Vial 17	1	12/20/2009 4:59:44 AM	cic000025.D	NEOVAS7-15MIN
23	Vial 18	1	12/20/2009 5:30:27 AM	cic000026.D	NEOVAS8-15MIN
24	Vial 19	1	12/20/2009 6:01:10 AM	cic000027.D	NEOVAS9-15MIN
25	Vial 20	1	12/20/2009 6:31:52 AM	cic000028.D	NEOVAS10-15MIN
26	Vial 21	1	12/20/2009 7:02:35 AM	cic000029.D	NEOVAS11-15MIN
27	Vial 22	1	12/20/2009 7:33:17 AM	cic000030.D	NEOVAS12-15MIN
28	Vial 23	1	12/20/2009 8:04:00 AM	cic000031.D	NEOVAS1-30MIN
29	Vial 24	1	12/20/2009 8:34:43 AM	cic000032.D	NEOVAS2-30MIN
30	Vial 25	1	12/20/2009 9:05:27 AM	cic000033.D	NEOVAS3-30MIN
31	Vial 26	1	12/20/2009 9:36:09 AM	cic000034.D	NEOVAS4-30MIN
32	Vial 27	1	12/20/2009 10:06:52 AM	cic000035.D	NEOVAS5-30MIN
33	Vial 28	1	12/20/2009 10:37:34 AM	cic000036.D	NEOVAS6-30MIN
34	Vial 29	1	12/20/2009 11:08:17 AM	cic000037.D	NEOVAS7-30MIN
35	Vial 30	1	12/20/2009 11:38:57 AM	cic000038.D	NEOVAS8-30MIN
36	Vial 31	1	12/20/2009 12:09:40 PM	cic000039.D	NEOVAS9-30MIN
37	Vial 32	1	12/20/2009 12:40:24 PM	cic000040.D	NEOVAS10-30MIN
38	Vial 33	1	12/20/2009 1:11:07 PM	cic000041.D	NEOVAS11-30MIN
39	Vial 34	1	12/20/2009 1:41:50 PM	cic000042.D	NEOVAS12-30MIN
40	Vial 35	1	12/20/2009 2:12:33 PM	cic000043.D	NEOVAS1-45MIN
41	Vial 36	1	12/20/2009 2:43:16 PM	cic000044.D	NEOVAS2-45MIN
42	Vial 37	1	12/20/2009 3:14:00 PM	cic000045.D	NEOVAS3-45MIN
43	Vial 38	1	12/20/2009 3:44:42 PM	cic000046.D	NEOVAS4-45MIN
44	Vial 39	1	12/20/2009 4:15:24 PM	cic000047.D	NEOVAS5-45MIN
45	Vial 40	1	12/20/2009 4:46:06 PM	cic000048.D	NEOVAS6-45MIN
46	Vial 41	1	12/20/2009 5:16:49 PM	cic000049.D	NEOVAS7-45MIN
47	Vial 42	1	12/20/2009 5:47:33 PM	cic000050.D	NEOVAS8-45MIN
48	Vial 43	1	12/20/2009 6:18:16 PM	cic000051.D	NEOVAS9-45MIN
49	Vial 44	1	12/20/2009 6:48:59 PM	cic000052.D	NEOVAS10-45MIN
50	Vial 45	1	12/20/2009 7:19:41 PM	cic000053.D	NEOVAS11-45MIN
51	Vial 46	1	12/20/2009 7:50:24 PM	cic000054.D	NEOVAS12-45MIN
52	Vial 47	1	12/20/2009 8:21:07 PM	cic000055.D	NEOVAS1-15MIN
53	Vial 48	1	12/20/2009 8:51:50 PM	cic000056.D	NEOVAS2-15MIN
54	Vial 49	1	12/20/2009 9:22:33 PM	cic000057.D	NEOVAS3-15MIN
55	Vial 50	1	12/20/2009 9:53:15 PM	cic000058.D	NEOVAS4-15MIN
56	Vial 51	1	12/20/2009 10:23:58 PM	cic000059.D	NEOVAS5-15MIN
57	Vial 52	1	12/20/2009 10:54:41 PM	cic000060.D	NEOVAS6-15MIN
58	Vial 53	1	12/20/2009 11:25:25 PM	cic000061.D	NEOVAS7-15MIN
59	Vial 54	1	12/20/2009 11:56:08 PM	cic000062.D	NEOVAS8-15MIN
60	Vial 55	1	12/20/2009 12:26:52 AM	cic000063.D	NEOVAS9-15MIN
61	Vial 56	1	12/21/2009 12:57:35 AM	cic000064.D	NEOVAS10-15MIN
62	Vial 57	1	12/21/2009 1:28:18 AM	cic000065.D	NEOVAS11-15MIN
63	Vial 58	1	12/21/2009 1:59:00 AM	cic000066.D	NEOVAS12-15MIN
64	Vial 59	1	12/21/2009 2:29:43 AM	cic000067.D	NEOVAS1-30MIN
65	Vial 60	1	12/21/2009 3:00:27 AM	cic000068.D	NEOVAS2-30MIN
66	Vial 61	1	12/21/2009 3:31:11 AM	cic000069.D	NEOVAS3-30MIN
67	Vial 62	1	12/21/2009 4:01:54 AM	cic000070.D	NEOVAS4-30MIN
68	Vial 63	1	12/21/2009 4:32:36 AM	cic000071.D	NEOVAS5-30MIN
69	Vial 64	1	12/21/2009 5:03:20 AM	cic000072.D	NEOVAS6-30MIN
70	Vial 65	1	12/21/2009 5:34:03 AM	cic000073.D	NEOVAS7-30MIN
71	Vial 66	1	12/21/2009 6:04:46 AM	cic000074.D	NEOVAS8-30MIN
72	Vial 67	1	12/21/2009 6:35:29 AM	cic000075.D	NEOVAS9-30MIN

Run Location	Inj #	Inj. Date/Time	File Name	Sample Name
69 Vial 64	1	12/21/2009 7:06:12 AM	cic000076.D	SUPVAS6-30MIN
70 Vial 65	1	12/21/2009 7:36:55 AM	cic000077.D	SUPVAS7-30MIN
71 Vial 66	1	12/21/2009 8:07:38 AM	cic000078.D	SUPVAS8-30MIN
72 Vial 67	1	12/21/2009 8:38:21 AM	cic000079.D	SUPVAS9-30MIN
73 Vial 68	1	12/21/2009 9:09:05 AM	cic000080.D	SUPVAS10-30MIN
74 Vial 69	1	12/21/2009 9:39:48 AM	cic000081.D	SUPVAS11-30MIN
75 Vial 70	1	12/21/2009 10:10:32 AM	cic000082.D	SUPVAS12-30MIN
76 Vial 71	1	12/21/2009 11:11:58 AM	cic000084.D	SUPVAS1-45MIN
77 Vial 72	1	12/21/2009 11:42:41 AM	cic000085.D	SUPVAS3-45MIN
78 Vial 73	1	12/21/2009 12:13:25 PM	cic000086.D	SUPVAS4-45MIN
79 Vial 74	1	12/21/2009 12:44:07 PM	cic000087.D	SUPVAS5-45MIN
80 Vial 75	1	12/21/2009 1:14:51 PM	cic000088.D	SUPVAS6-45MIN
81 Vial 76	1	12/21/2009 1:45:34 PM	cic000089.D	SUPVAS7-45MIN
82 Vial 77	1	12/21/2009 2:16:18 PM	cic000090.D	SUPVAS8-45MIN
83 Vial 78	1	12/21/2009 2:47:01 PM	cic000091.D	SUPVAS9-45MIN
84 Vial 79	1	12/21/2009 3:17:45 PM	cic000092.D	SUPVAS10-45MIN
85 Vial 80	1	12/21/2009 3:48:28 PM	cic000093.D	SUPVAS11-45MIN
86 Vial 81	1	12/21/2009 4:19:12 PM	cic000094.D	SUPVAS12-45MIN
87 Vial 82	1	12/21/2009 4:49:55 PM	cic000095.D	

Compound: ciclosporina (Signal: DAD1 A, Sig=210, 4 Ref=360,100)

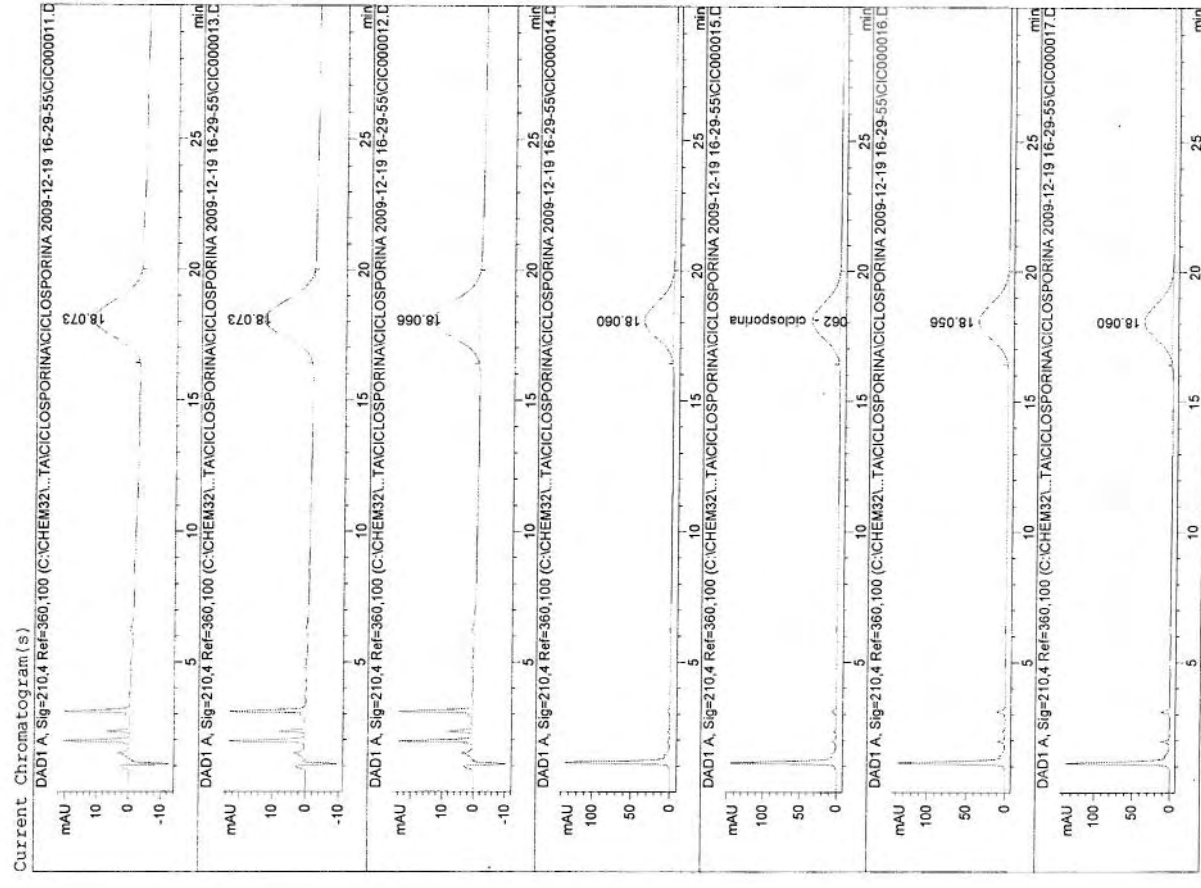
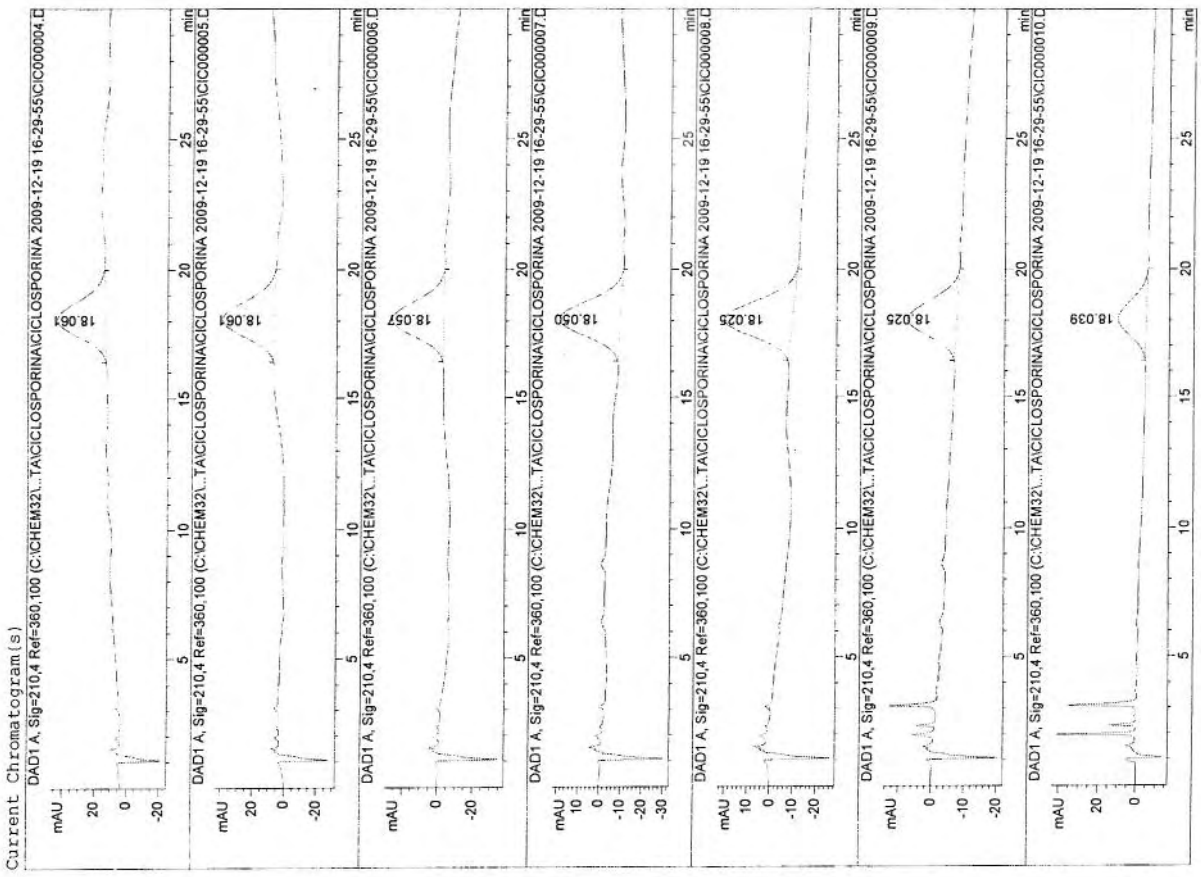
Run Type	RetTime [min]	Amount [%]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Width [min]	Symm.
16 BBA	18.055	55.66177	3350.46558	34.91705	1.4075	0.93
17 BBA	18.049	53.76147	3236.08032	33.69553	1.4445	0.92
18 BBA	18.052	58.33115	3511.14453	36.54911	1.3968	0.93
19 BBA	18.047	63.00295	3792.35571	39.45972	1.4032	0.92
20 BBA	18.034	51.82738	3119.66113	32.44286	1.3539	0.92
21 BBA	18.044	56.22932	3384.62866	35.11178	1.3886	0.92
22 BBA	18.025	49.58600	2984.74512	31.05155	1.3834	0.92
23 BBA	18.035	58.35790	3512.75439	36.41352	1.4495	0.91
24 BBA	18.038	75.22334	4527.94141	46.78168	1.4312	0.91
25 BBA	18.034	74.09908	4460.26807	46.14178	1.4278	0.91
26 BBA	18.040	74.25171	4469.45557	46.15992	1.4316	0.91
27 BBA	18.034	75.66368	4534.44678	46.63509	1.4314	0.90
28 BBA	18.026	77.54210	4667.51514	48.37744	1.4376	0.91
29 BBA	18.018	73.36909	4416.32764	45.69389	1.4296	0.91
30 BBA	18.009	71.78992	4321.27246	44.70921	1.4636	0.90
31 BBA	17.998	74.37491	4476.87158	46.52129	1.4587	0.91
32 BBA	17.997	78.31403	4713.97998	49.01778	1.4520	0.90
33 BBA	17.993	75.35926	4536.12256	47.00909	1.4438	0.90
34 BBA	17.983	73.02674	4395.72070	45.76306	1.4526	0.90
35 BBA	17.987	76.35295	4595.93604	47.82536	1.3931	0.91
36 BBA	17.967	76.49241	4604.33057	47.99364	1.4373	0.89
37 BBA	17.969	76.43391	4600.60957	47.95597	1.4253	0.89
38 BBA	17.969	74.32174	4473.67090	46.66261	1.4365	0.90
39 BBA	17.972	73.26909	4410.30811	45.60135	1.4403	0.89
40 BBA	17.964	75.69994	4556.62939	47.59588	1.4429	0.89
41 BBA	17.954	82.79821	4983.89746	51.59322	1.4190	0.90
42 BBA	17.954	78.22769	4708.78271	49.30957	1.4341	0.89
43 BBA	17.951	75.92510	4570.18213	47.94242	1.4421	0.89
44 BBA	17.953	79.18145	4766.19287	49.92439	1.4398	0.89
45 BBA	17.948	75.43982	4540.97168	47.31878	1.4456	0.88
46 BBA	17.941	70.44827	4240.51416	44.42389	1.4556	0.88
47 BBA	17.943	82.04134	4938.33887	51.73281	1.4277	0.89
48 BBA	17.935	74.88284	4507.44531	47.31168	1.4275	0.89
49 BBA	17.937	76.35613	4596.12744	48.23678	1.4256	0.89
50 BBA	17.935	74.65657	4493.82568	47.15178	1.4379	0.90
51 BBA	17.936	75.26642	4530.53418	47.31501	1.4571	0.88

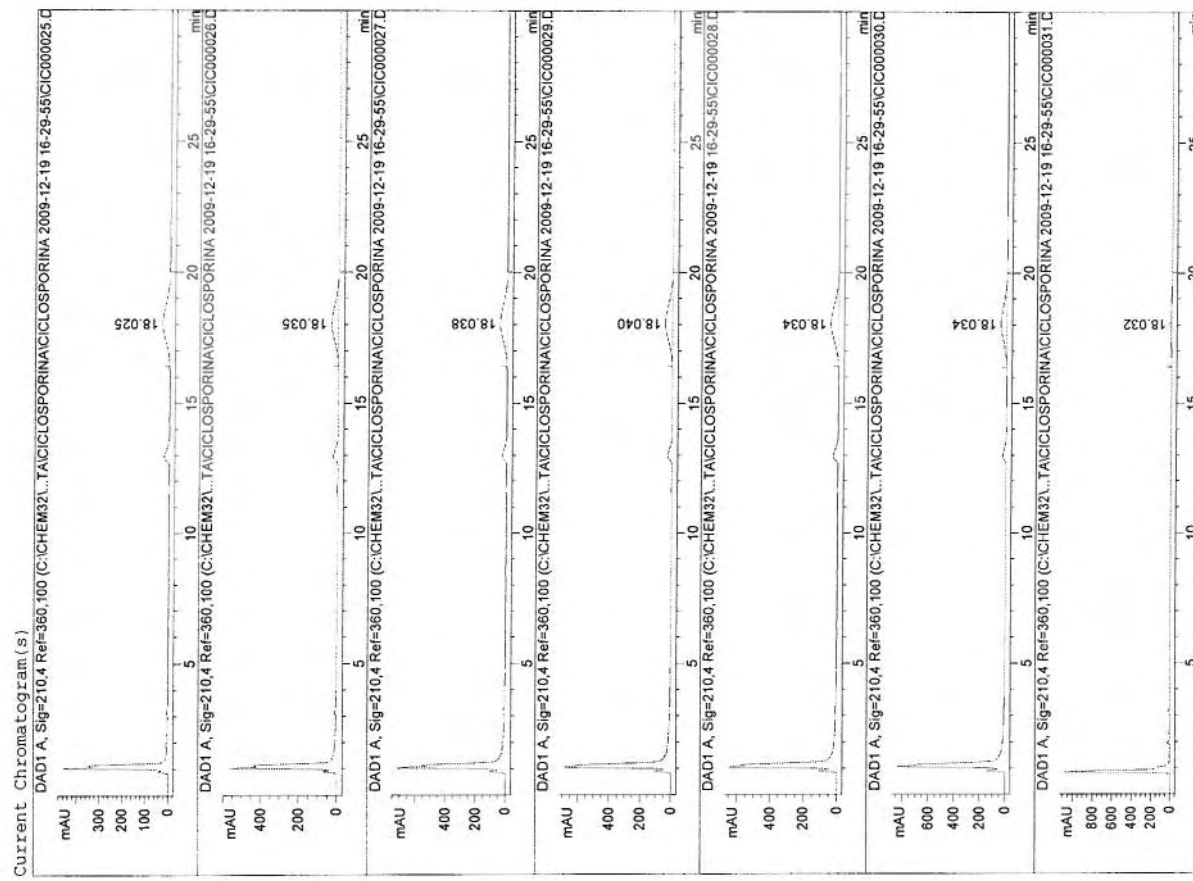
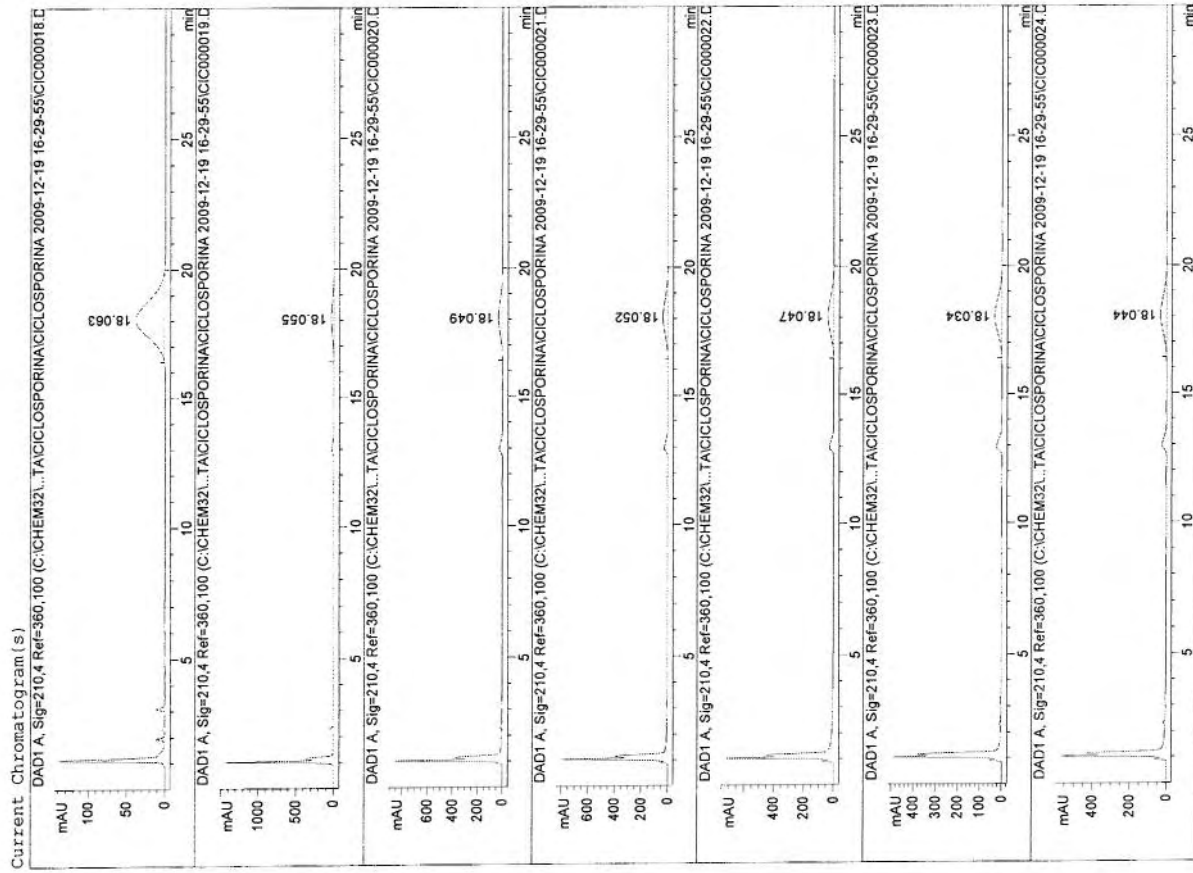
* * * Sample Summary

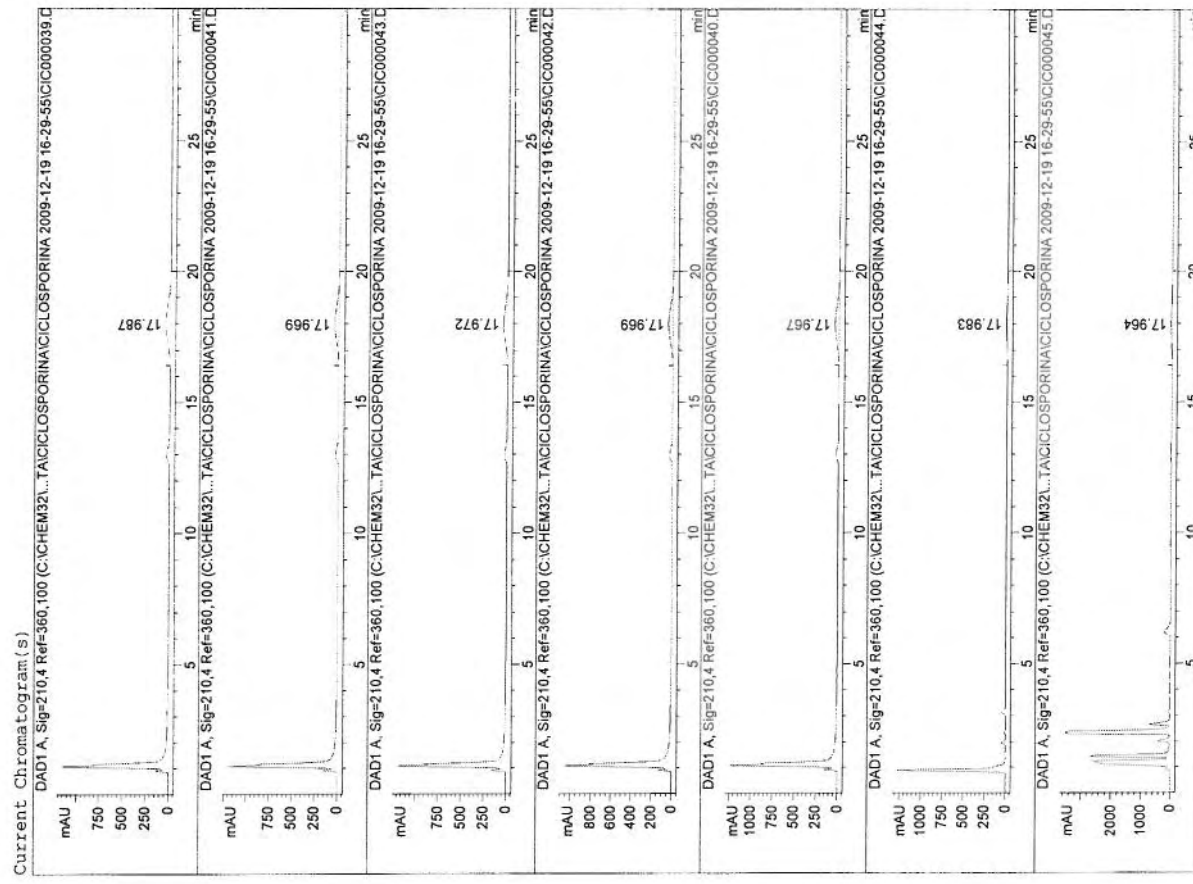
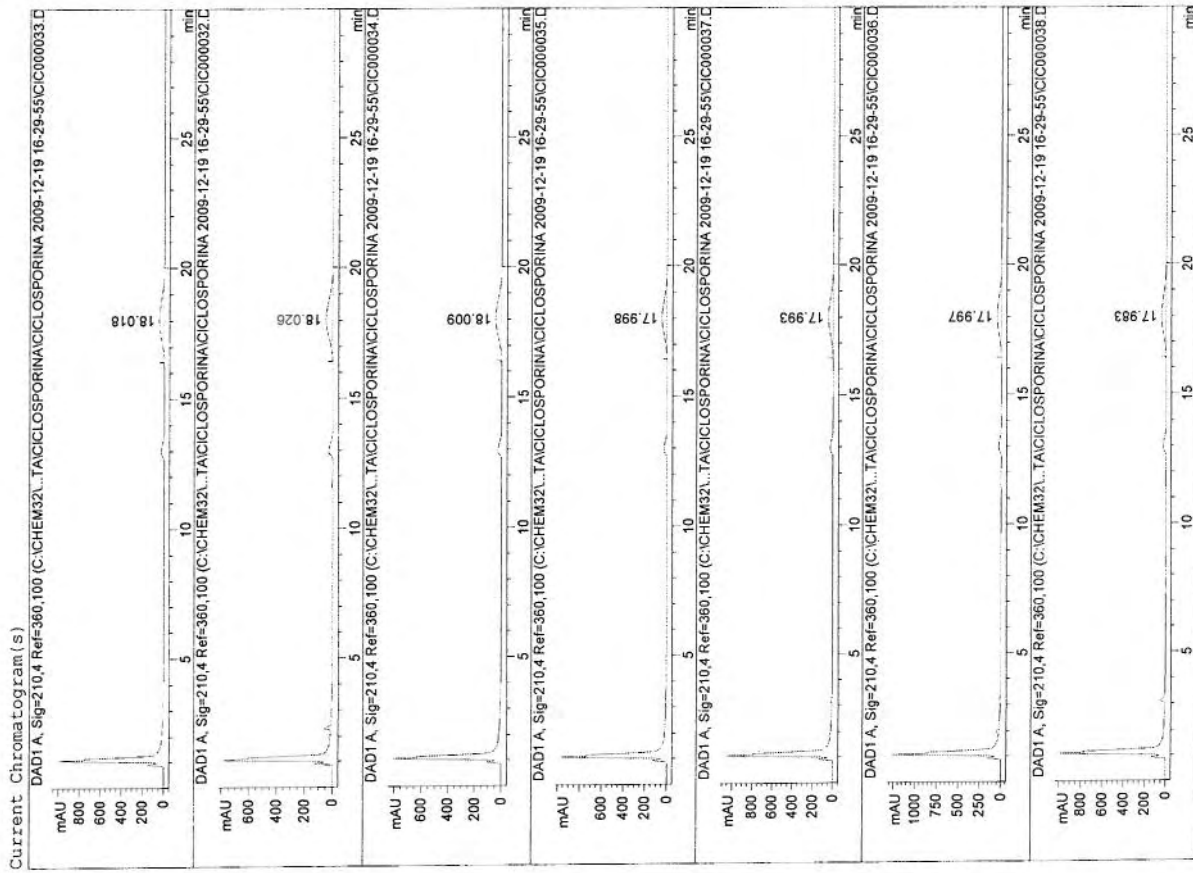
Sequence table: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\CICLOSPORINA 2009-12-19 16-29-55\ Page
CICLOSPORINA.S
Data directory path: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\CICLOSPORINA 2009-12-19 16-29-55\
Logbook: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\CICLOSPORINA 2009-12-19 16-29-55\
CICLOSPORINA.LOG
Sequence start: 12/19/2009 6:09:43 PM
Statistic report on calibration runs: 1
Statistic report on sample runs: 4
Operator: CCA
Method file name: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\CICLOSPORINA 2009-12-19 16-29-55\
CICLOSPORINA.M

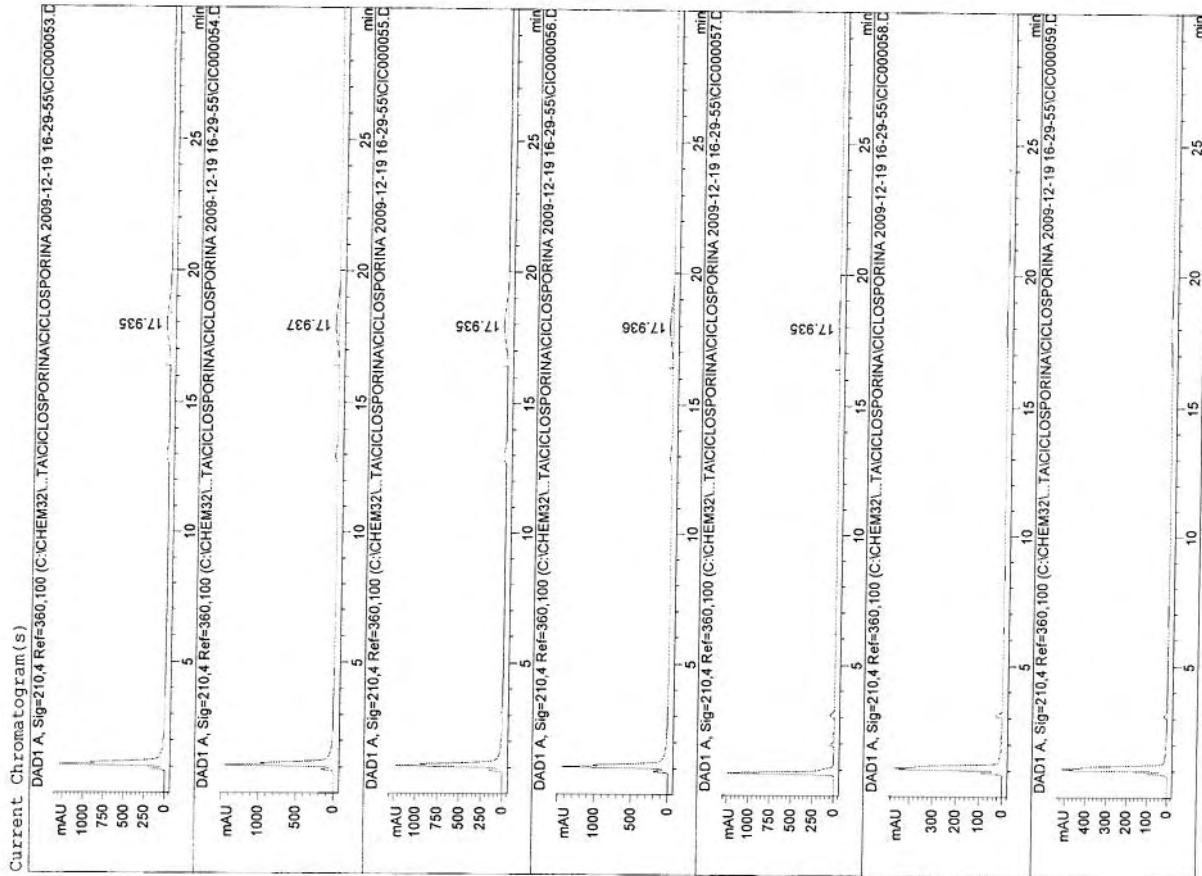
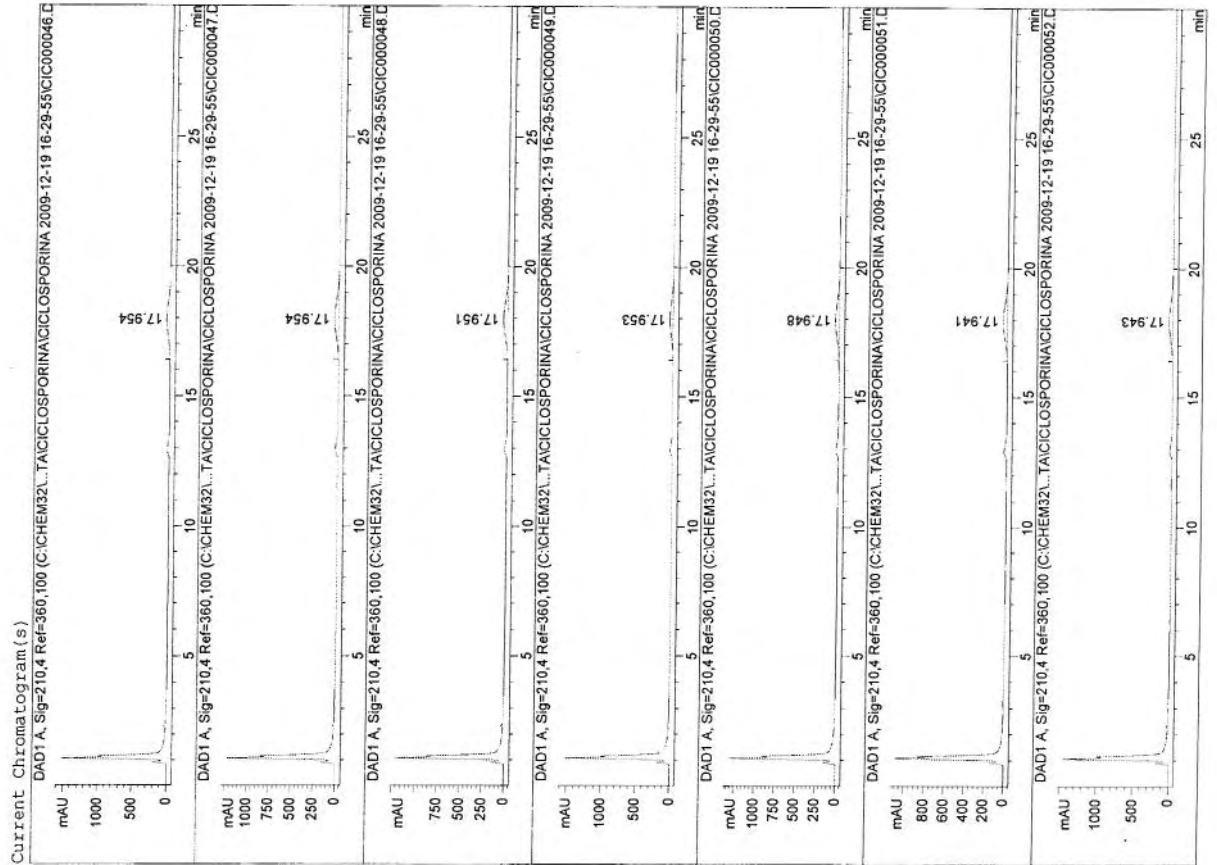
Run #	Location	Inj #	Sample Name	Sample Amt (%)	Multip. Dilution	File name	Cal #	Page Cmp #
1	Vial 1	1	ST	-	1.0000	cic000004.D	*	1 -
2	Vial 1	1	ST	-	1.0000	cic000005.D	*	1 -
3	Vial 1	1	ST	-	1.0000	cic000006.D	*	1 -
4	Vial 1	1	ST	-	1.0000	cic000007.D	*	1 -
5	Vial 1	1	ST	-	1.0000	cic000008.D	*	1 -
6	Vial 2	1	ST	-	1.0000	cic000009.D	*	1 -
7	Vial 2	1	ST	-	1.0000	cic000010.D	*	1 -
8	Vial 2	1	ST	-	1.0000	cic000011.D	*	1 -
9	Vial 2	1	ST	-	1.0000	cic000012.D	*	1 -
10	Vial 2	1	ST	-	1.0000	cic000013.D	*	1 -
11	Vial 3	1	ST	-	1.0000	cic000014.D	*	1 -
12	Vial 3	1	ST	-	1.0000	cic000015.D	*	1 -
13	Vial 3	1	ST	-	1.0000	cic000016.D	*	1 -
14	Vial 3	1	ST	-	1.0000	cic000017.D	*	1 -
15	Vial 3	1	ST	-	1.0000	cic000018.D	*	1 -
16	Vial 11	1	NEOVAS1-15MIN	-	2.000e3	cic000019.D	1	1 -
17	Vial 12	1	NEOVAS2-15MIN	-	2.000e3	cic000020.D	1	1 -
18	Vial 13	1	NEOVAS3-15MIN	-	2.000e3	cic000021.D	1	1 -
19	Vial 14	1	NEOVAS4-15MIN	-	2.000e3	cic000022.D	1	1 -
20	Vial 15	1	NEOVAS5-15MIN	-	2.000e3	cic000023.D	1	1 -
21	Vial 16	1	NEOVAS6-15MIN	-	2.000e3	cic000024.D	1	1 -
22	Vial 17	1	NEOVAS7-15MIN	-	2.000e3	cic000025.D	1	1 -
23	Vial 18	1	NEOVAS8-15MIN	-	2.000e3	cic000026.D	1	1 -
24	Vial 19	1	NEOVAS9-15MIN	-	2.000e3	cic000027.D	1	1 -
25	Vial 20	1	NEOVAS10-15MIN	-	2.000e3	cic000028.D	1	1 -
26	Vial 21	1	NEOVAS11-15MIN	-	2.000e3	cic000029.D	1	1 -
27	Vial 22	1	NEOVAS12-15MIN	-	2.000e3	cic000030.D	1	1 -
28	Vial 23	1	NEOVAS1-30MIN	-	2.000e3	cic000032.D	1	1 -
29	Vial 24	1	NEOVAS2-30MIN	-	2.000e3	cic000033.D	1	1 -
30	Vial 25	1	NEOVAS3-30MIN	-	2.000e3	cic000034.D	1	1 -
31	Vial 26	1	NEOVAS4-30MIN	-	2.000e3	cic000035.D	1	1 -
32	Vial 27	1	NEOVAS5-30MIN	-	2.000e3	cic000036.D	1	1 -
33	Vial 28	1	NEOVAS6-30MIN	-	2.000e3	cic000037.D	1	1 -
34	Vial 29	1	NEOVAS7-30MIN	-	2.000e3	cic000038.D	1	1 -
35	Vial 30	1	NEOVAS8-30MIN	-	2.000e3	cic000039.D	1	1 -
36	Vial 31	1	NEOVAS9-30MIN	-	2.000e3	cic000040.D	1	1 -
37	Vial 32	1	NEOVAS10-30MIN	-	2.000e3	cic000041.D	1	1 -
38	Vial 33	1	NEOVAS11-30MIN	-	2.000e3	cic000042.D	1	1 -
39	Vial 34	1	NEOVAS12-30MIN	-	2.000e3	cic000043.D	1	1 -
40	Vial 35	1	NEOVAS1-45MIN	-	2.000e3	cic000045.D	1	1 -
41	Vial 36	1	NEOVAS2-45MIN	-	2.000e3	cic000046.D	1	1 -
42	Vial 37	1	NEOVAS3-45MIN	-	2.000e3	cic000047.D	1	1 -
43	Vial 38	1	NEOVAS4-45MIN	-	2.000e3	cic000048.D	1	1 -
44	Vial 39	1	NEOVAS5-45MIN	-	2.000e3	cic000049.D	1	1 -
45	Vial 40	1	NEOVAS6-45MIN	-	2.000e3	cic000050.D	1	1 -
46	Vial 41	1	NEOVAS7-45MIN	-	2.000e3	cic000051.D	1	1 -

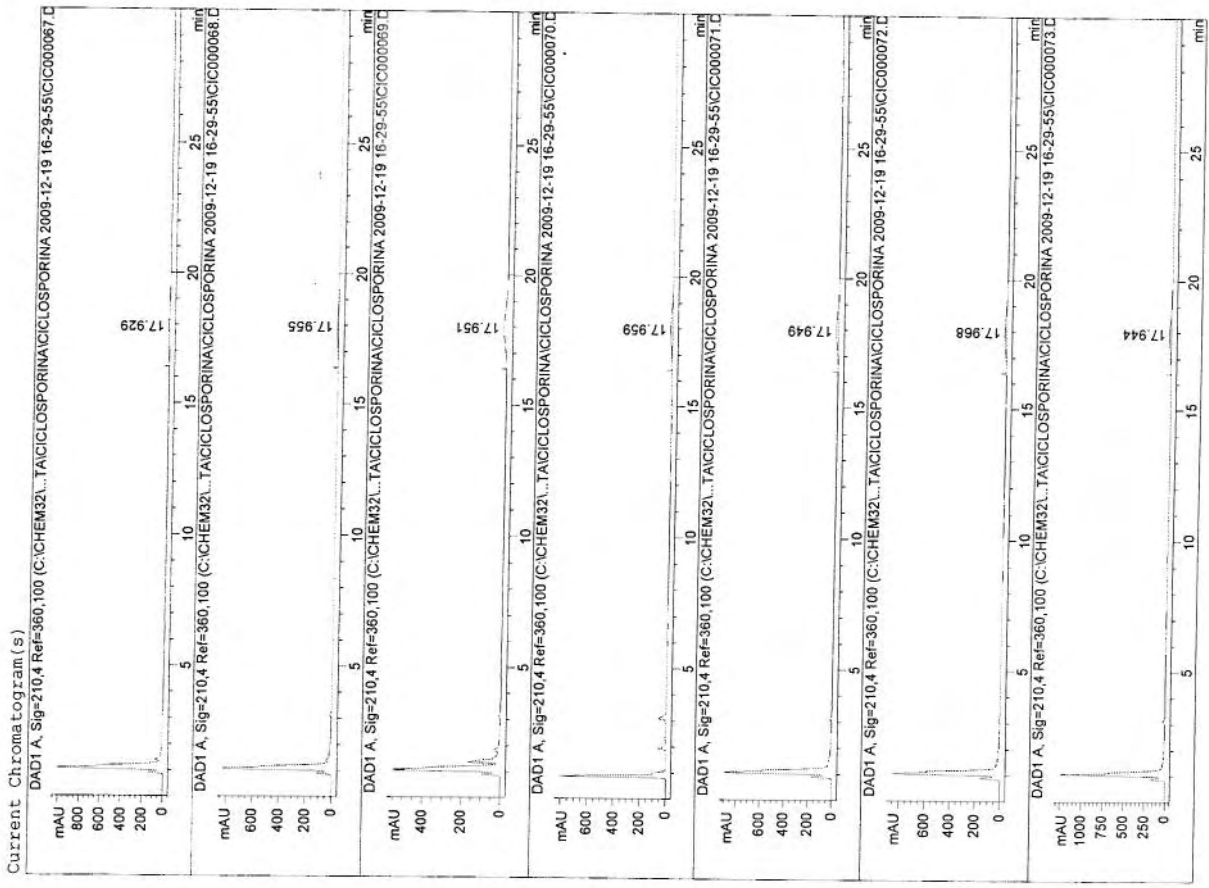
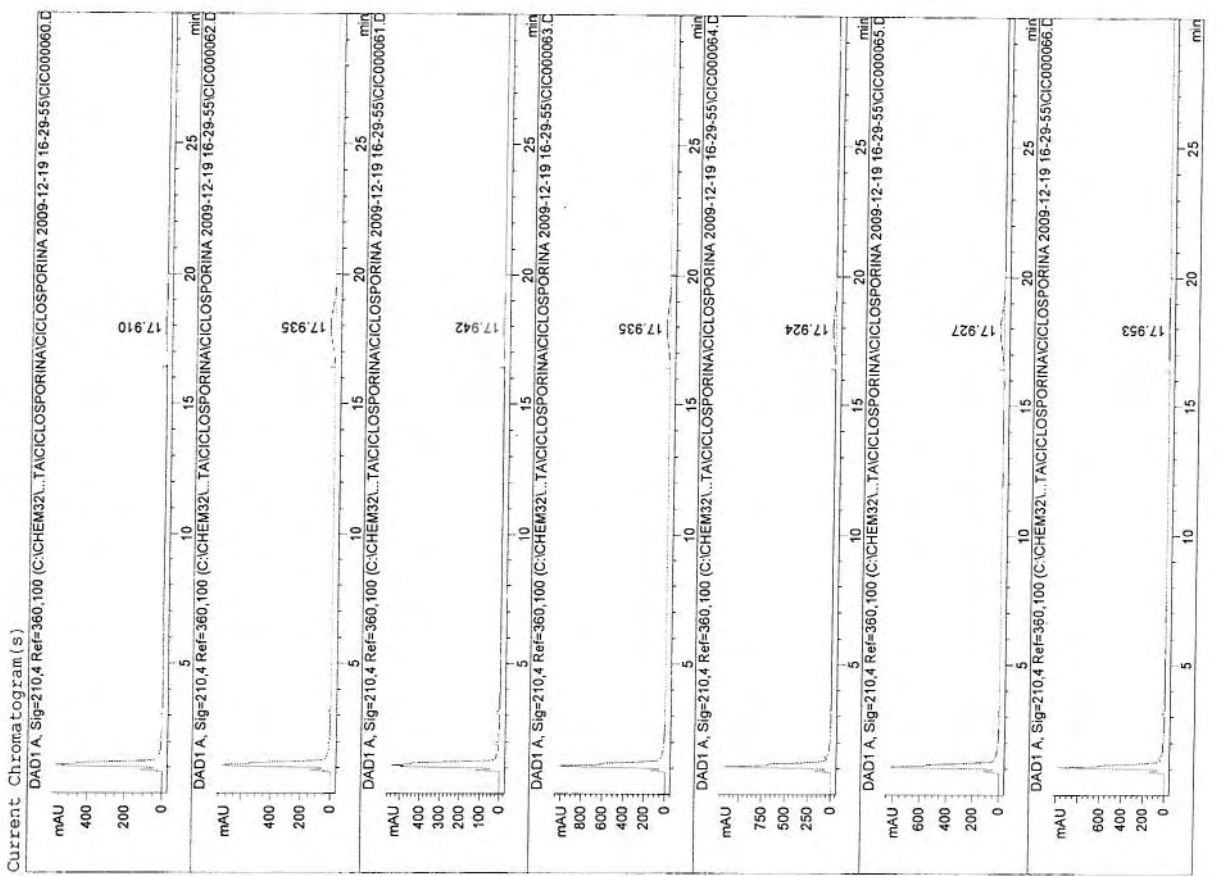
Run #	Location	Inj #	Sample Name	Sample Amt (%)	Multip. Dilution	File name	Cal #	Page Cmp #
47	Vial 42	1	NEOVAS8-45MIN	-	2.000e3	cic000052.D	1	1 -
48	Vial 43	1	NEOVAS9-45MIN	-	2.000e3	cic000053.D	1	1 -
49	Vial 44	1	NEOVAS10-45MIN	-	2.000e3	cic000054.D	1	1 -
50	Vial 45	1	NEOVAS11-45MIN	-	2.000e3	cic000055.D	1	1 -
51	Vial 46	1	NEOVAS12-45MIN	-	2.000e3	cic000056.D	1	1 -
52	Vial 47	1	SUPVAS1-15MIN	-	2.000e3	cic000058.D	0	0 -
53	Vial 48	1	SUPVAS2-15MIN	-	2.000e3	cic000059.D	0	0 -
54	Vial 49	1	SUPVAS3-15MIN	-	2.000e3	cic000060.D	1	1 -
55	Vial 50	1	SUPVAS4-15MIN	-	2.000e3	cic000061.D	1	1 -
56	Vial 51	1	SUPVAS5-15MIN	-	2.000e3	cic000062.D	1	1 -
57	Vial 52	1	SUPVAS6-15MIN	-	2.000e3	cic000063.D	1	1 -
58	Vial 53	1	SUPVAS7-15MIN	-	2.000e3	cic000064.D	1	1 -
59	Vial 54	1	SUPVAS8-15MIN	-	2.000e3	cic000065.D	1	1 -
60	Vial 55	1	SUPVAS9-15MIN	-	2.000e3	cic000066.D	1	1 -
61	Vial 56	1	SUPVAS10-15MIN	-	2.000e3	cic000067.D	1	1 -
62	Vial 57	1	SUPVAS11-15MIN	-	2.000e3	cic000068.D	1	1 -
63	Vial 58	1	SUPVAS12-15MIN	-	2.000e3	cic000069.D	1	1 -
64	Vial 59	1	SUPVAS1-30MIN	-	2.000e3	cic000071.D	1	1 -
65	Vial 60	1	SUPVAS2-30MIN	-	2.000e3	cic000072.D	1	1 -
66	Vial 61	1	SUPVAS3-30MIN	-	2.000e3	cic000073.D	1	1 -
67	Vial 62	1	SUPVAS4-30MIN	-	2.000e3	cic000074.D	1	1 -
68	Vial 63	1	SUPVAS5-30MIN	-	2.000e3	cic000075.D	1	1 -
69	Vial 64	1	SUPVAS6-30MIN	-	2.000e3	cic000076.D	1	1 -
70	Vial 65	1	SUPVAS7-30MIN	-	2.000e3	cic000077.D	1	1 -
71	Vial 66	1	SUPVAS8-30MIN	-	2.000e3	cic000078.D	1	1 -
72	Vial 67	1	SUPVAS9-30MIN	-	2.000e3	cic000079.D	1	1 -
73	Vial 68	1	SUPVAS10-30MIN	-	2.000e3	cic000080.D	1	1 -
74	Vial 69	1	SUPVAS11-30MIN	-	2.000e3	cic000081.D	1	1 -
75	Vial 70	1	SUPVAS12-30MIN	-	2.000e3	cic000082.D	1	1 -
76	Vial 71	1	SUPVAS1-45MIN	-	2.000e3	cic000084.D	1	1 -
77	Vial 72	1	SUPVAS2-45MIN	-	2.000e3	cic000085.D	1	1 -
78	Vial 73	1	SUPVAS3-45MIN	-	2.000e3	cic000086.D	1	1 -
79	Vial 74	1	SUPVAS4-45MIN	-	2.000e3	cic000087.D	1	1 -
80	Vial 75	1	SUPVAS5-45MIN	-	2.000e3	cic000088.D	1	1 -
81	Vial 76	1	SUPVAS6-45MIN	-	2.000e3	cic000089.D	1	1 -
82	Vial 77	1	SUPVAS7-45MIN	-	2.000e3	cic000090.D	1	1 -
83	Vial 78	1	SUPVAS8-45MIN	-	2.000e3	cic000091.D	1	1 -
84	Vial 79	1	SUPVAS9-45MIN	-	2.000e3	cic000092.D	1	1 -
85	Vial 80	1	SUPVAS10-45MIN	-	2.000e3	cic000093.D	1	1 -
86	Vial 81	1	SUPVAS11-45MIN	-	2.000e3	cic000094.D	1	1 -
87	Vial 82	1	SUPVAS12-45MIN	-	2.000e3	cic000095.D	1	1 -

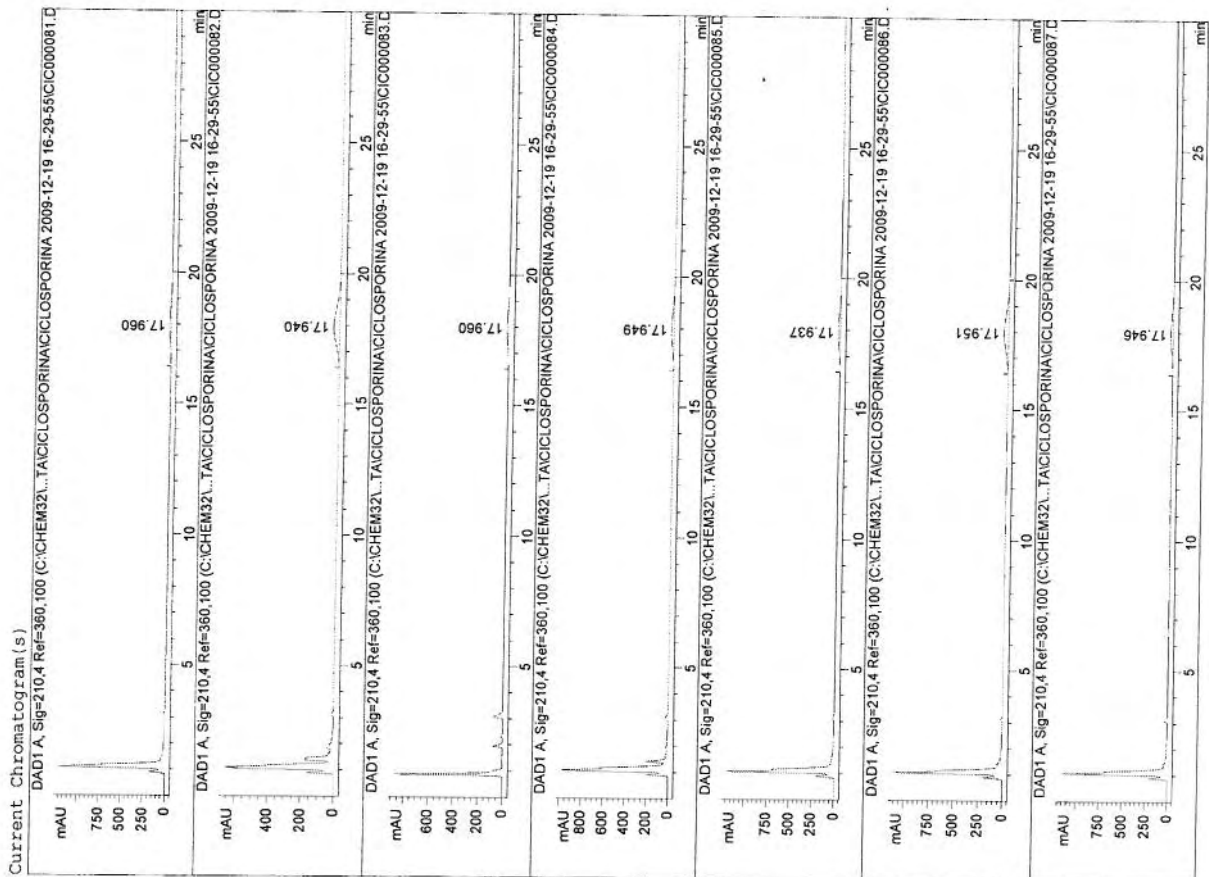
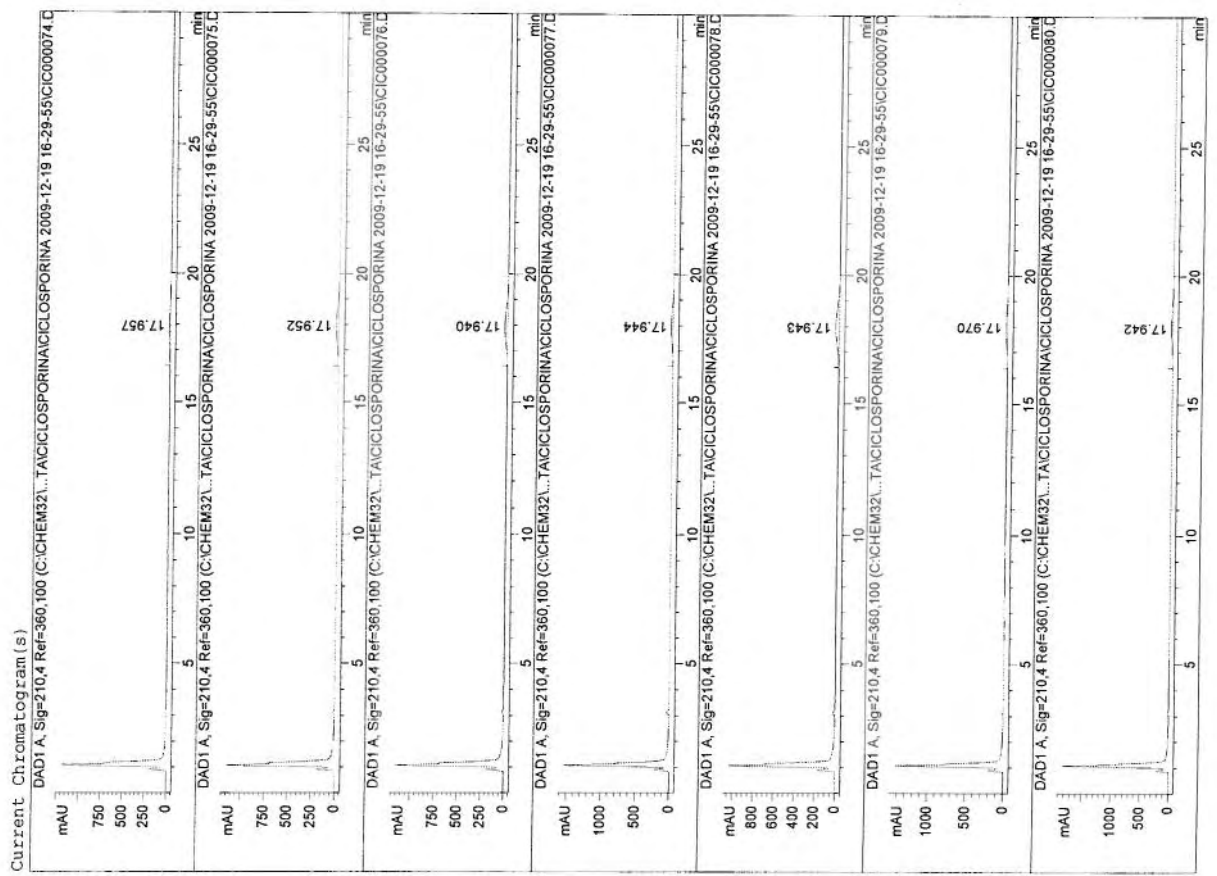


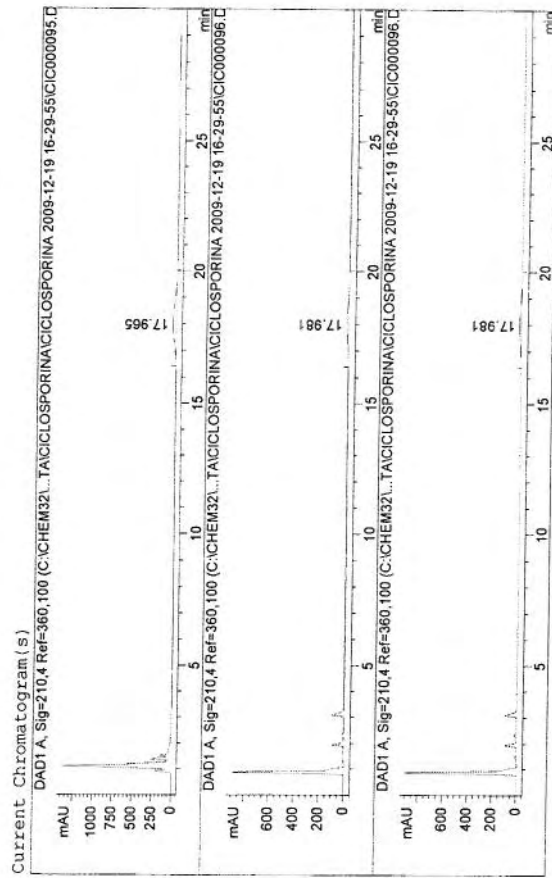
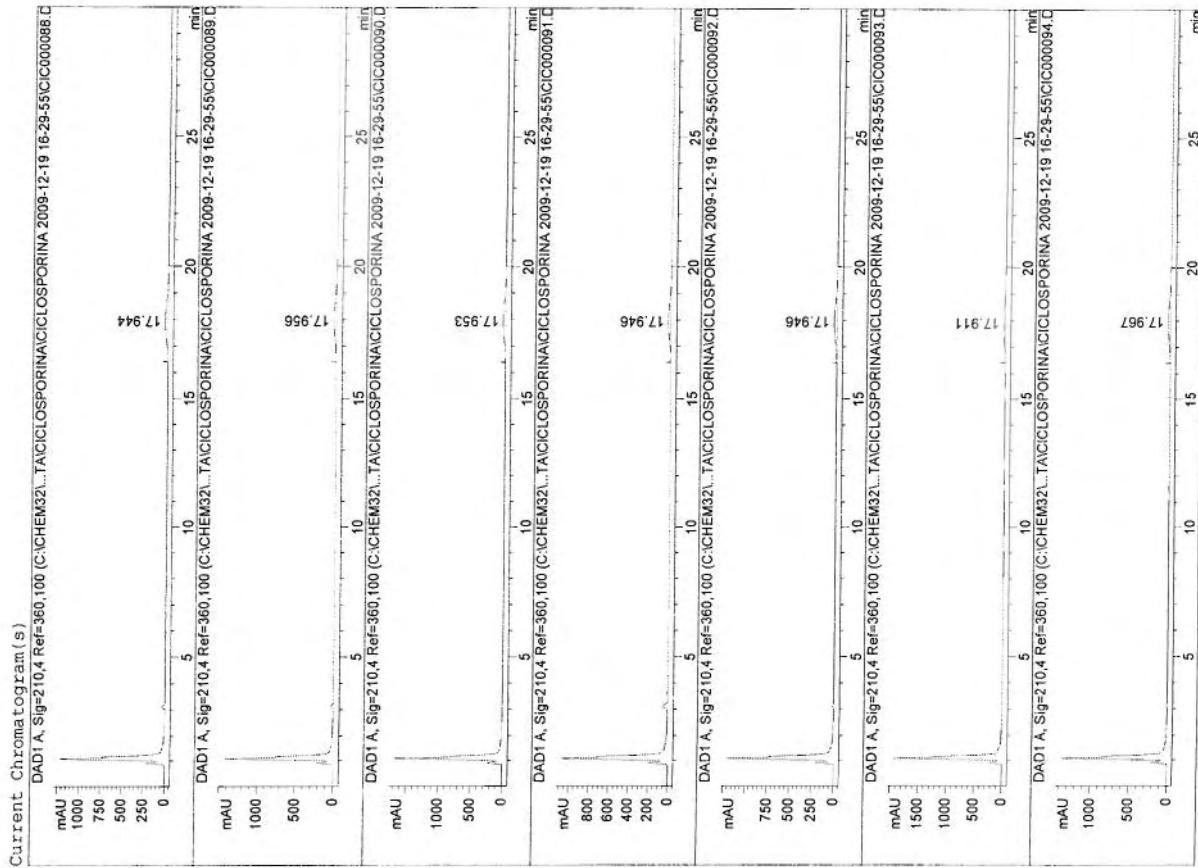












Calibration Table

Calib. Data Modified : Saturday, January 09, 2010 1:29:26 PM

Calculate : External Standard
Based on : Peak AreaRel. Reference Window : 5.000 %
Abs. Reference Window : 0.000 min
Rel. Non-ref. Window : 5.000 %
Abs. Non-ref. Window : 0.000 min
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
Uncalibrated Peaks : using compound ciclosporina
Partial Calibration : Yes, identified peaks are recalibrated
Correct All Ret. Times: No, only for identified peaksCurve Type : Linear
Origin : Forced
Weight : EqualRecalibration Settings:
Average Response : Average all calibrations
Average Retention Time: Floating Average New 75%

Calibration Report Options :

Printout of recalibrations within a sequence:

Calibration Table after Recalibration

Normal Report after Recalibration

If the sequence is done with bracketing:

Results of first cycle (ending previous bracket):

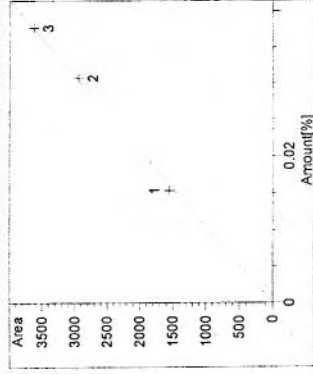
Signal 1: DAD1 A, Sig=210,4 Ref=360,100

RetTime Lvl Amount Area Amt/Area Ref Grp Name
[min] Sig [%]-----
19.219 1 1.54000e-2 1556.14119 9.89627e-6 ciclosporina
2 3.08000e-2 2943.06917 1.04653e-5
3 3.77110e-2 3621.33065 1.04136e-5

Peak Sum Table

No Entries in table

Calibration Curves

ciclosporina at exp. RT: 19.219
DAD1 A, Sig=210,4 Ref=360,100
Correlation: 0.99988
Residual Std. Dev.: 54.67537
Formula: $y = mx$
m: 96312.44478
x: Amount
y: Area

Statistical Report

Sequence table: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2009-12-26 15-18-14\TESIS.S
Data directory path: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2009-12-26 15-18-14\TESIS.S
Operator: CCA

Method file name: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2009-12-26 15-18-14\CICLOSPORINA.M

Run #	Location	Inj #	Inj. Date/Time	File Name	Sample Name
1	Vial 1	1	12/26/2009 10:20:00 PM	tesis000007.D	ST1
2	Vial 1	1	12/26/2009 10:53:11 PM	tesis000008.D	ST1
3	Vial 1	1	12/26/2009 11:26:24 PM	tesis000009.D	ST1
4	Vial 1	1	12/26/2009 11:59:36 PM	tesis000010.D	ST1
5	Vial 1	1	12/27/2009 12:32:48 AM	tesis000011.D	ST1
6	Vial 2	1	12/27/2009 1:05:59 AM	tesis000012.D	ST2
7	Vial 2	1	12/27/2009 1:39:12 AM	tesis000013.D	ST2
8	Vial 2	1	12/27/2009 2:12:23 AM	tesis000014.D	ST2
9	Vial 2	1	12/27/2009 2:45:35 AM	tesis000015.D	ST2
10	Vial 2	1	12/27/2009 3:18:48 AM	tesis000016.D	ST2
11	Vial 3	1	12/27/2009 3:51:57 AM	tesis000017.D	ST3
12	Vial 3	1	12/27/2009 4:25:10 AM	tesis000018.D	ST3
13	Vial 3	1	12/27/2009 4:58:24 AM	tesis000019.D	ST3
14	Vial 3	1	12/27/2009 5:31:37 AM	tesis000020.D	ST3
15	Vial 3	1	12/27/2009 6:04:51 AM	tesis000021.D	ST3

Compound: ciclosporina (Signal: DAD1 A, Sig=210,4 Ref=360,100)

Run #	Type	RetTime [min]	Amount [%]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Width [min]	Symm.
1	BBA	19.678	1.57661e-2	1553.44519	13.58733	1.3519	0.87
2	BBA	19.597	1.59727e-2	1574.80884	13.70816	1.3623	0.83
3	BBA	19.554	1.55171e-2	1528.80969	13.48882	1.3543	0.88
4	BBA	19.510	1.58096e-2	1557.75818	13.67754	1.3407	0.87
5	BBA	19.460	1.58898e-2	1565.88403	13.74406	1.3452	0.85
6	BBA	19.403	3.00238e-2	2946.91821	27.44520	1.2827	0.89
7	BBA	19.368	2.98636e-2	2924.64990	27.28078	1.3767	0.86
8	BBA	19.354	3.00569e-2	2941.80688	27.48250	1.3628	0.90
9	BBA	19.325	2.99090e-2	2925.09668	27.33157	1.4446	0.89
10	BBA	19.299	2.97432e-2	2906.29639	27.22477	1.3594	0.88
11	BBA	19.289	3.73706e-2	3626.94434	34.22608	1.4443	0.91
12	BBA	19.264	3.75535e-2	3638.53027	34.17615	1.4961	0.89
13	BBA	19.246	3.70462e-2	3578.27490	33.83566	1.3758	0.91
14	BBA	19.225	3.72432e-2	3592.08789	34.05774	1.3825	0.89
15	BBA	19.214	3.71079e-2	3573.95410	33.85144	1.3437	0.85

Mean: 19.386 2.76582e-2 2695.68437 25.00785 1.3749 0.88
S.D.: 0.144 9.22513e-3 881.44231 8.78581 0.0517 0.02
RSD : 0.743 33.35404 32.69828 35.13221 3.7615 2.56
95% CI: 0.080 5.10871e-3 488.12636 4.86542 0.0286 0.01

Statistical Report

Sequence table: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2009-12-26 15-18-14\TESIS.S
Data directory path: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2009-12-26 15-18-14\TESIS.S
Operator: CCA

Method file name: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2009-12-26 15-18-14\CICLOSPORINA.M

Run #	Location	Inj #	Inj. Date/Time	File Name	Sample Name
16	Vial 11	1	12/27/2009 6:38:03 AM	tesis000022.D	NEOVAS1-15MIN
17	Vial 12	1	12/27/2009 7:11:17 AM	tesis000023.D	NEOVAS2-15MIN
18	Vial 13	1	12/27/2009 7:44:30 AM	tesis000024.D	NEOVAS3-15MIN
19	Vial 14	1	12/27/2009 8:17:44 AM	tesis000025.D	NEOVAS4-15MIN
20	Vial 15	1	12/27/2009 8:50:57 AM	tesis000026.D	NEOVAS5-15MIN
21	Vial 16	1	12/27/2009 9:24:09 AM	tesis000027.D	NEOVAS6-15MIN
22	Vial 17	1	12/27/2009 9:57:23 AM	tesis000028.D	NEOVAS7-15MIN
23	Vial 18	1	12/27/2009 10:30:35 AM	tesis000029.D	NEOVAS8-15MIN
24	Vial 19	1	12/27/2009 11:03:49 AM	tesis000030.D	NEOVAS9-15MIN
25	Vial 20	1	12/27/2009 11:37:04 AM	tesis000031.D	NEOVAS10-15MIN
26	Vial 21	1	12/27/2009 12:10:20 PM	tesis000032.D	NEOVAS11-15MIN
27	Vial 22	1	12/27/2009 12:43:36 PM	tesis000033.D	NEOVAS12-15MIN
28	Vial 23	1	12/27/2009 1:16:49 PM	tesis000034.D	NEOVAS1-30MIN
29	Vial 24	1	12/27/2009 1:50:03 PM	tesis000035.D	NEOVAS2-30MIN
30	Vial 25	1	12/27/2009 2:23:16 PM	tesis000036.D	NEOVAS3-30MIN
31	Vial 26	1	12/27/2009 2:56:30 PM	tesis000037.D	NEOVAS4-30MIN
32	Vial 27	1	12/27/2009 3:29:43 PM	tesis000038.D	NEOVAS5-30MIN
33	Vial 28	1	12/27/2009 4:02:58 PM	tesis000039.D	NEOVAS6-30MIN
34	Vial 29	1	12/27/2009 4:36:11 PM	tesis000040.D	NEOVAS7-30MIN
35	Vial 30	1	12/27/2009 5:09:24 PM	tesis000041.D	NEOVAS8-30MIN
36	Vial 31	1	12/27/2009 5:42:40 PM	tesis000042.D	NEOVAS9-30MIN
37	Vial 32	1	12/27/2009 6:15:56 PM	tesis000043.D	NEOVAS10-30MIN
38	Vial 33	1	12/27/2009 6:49:10 PM	tesis000044.D	NEOVAS11-30MIN
39	Vial 34	1	12/27/2009 7:22:23 PM	tesis000045.D	NEOVAS12-30MIN
40	Vial 35	1	12/27/2009 7:55:36 PM	tesis000046.D	NEOVAS1-45MIN
41	Vial 36	1	12/27/2009 8:28:50 PM	tesis000047.D	NEOVAS2-45MIN
42	Vial 37	1	12/27/2009 9:02:05 PM	tesis000048.D	NEOVAS3-45MIN
43	Vial 38	1	12/27/2009 9:35:20 PM	tesis000049.D	NEOVAS4-45MIN
44	Vial 39	1	12/27/2009 10:08:35 PM	tesis000050.D	NEOVAS5-45MIN
45	Vial 40	1	12/27/2009 10:41:50 PM	tesis000051.D	NEOVAS6-45MIN
46	Vial 41	1	12/27/2009 11:15:02 PM	tesis000052.D	NEOVAS7-45MIN
47	Vial 42	1	12/27/2009 11:48:19 PM	tesis000053.D	NEOVAS8-45MIN
48	Vial 43	1	12/28/2009 12:21:33 AM	tesis000054.D	NEOVAS9-45MIN
49	Vial 44	1	12/28/2009 12:54:46 AM	tesis000055.D	NEOVAS10-45MIN
50	Vial 45	1	12/28/2009 1:28:01 AM	tesis000056.D	NEOVAS11-45MIN
51	Vial 46	1	12/28/2009 2:01:15 AM	tesis000057.D	NEOVAS12-45MIN
52	Vial 47	1	12/28/2009 2:34:29 AM	tesis000058.D	SUPVAS1-15MIN
53	Vial 48	1	12/28/2009 3:07:43 AM	tesis000059.D	SUPVAS2-15MIN
54	Vial 49	1	12/28/2009 3:40:58 AM	tesis000060.D	SUPVAS3-15MIN
55	Vial 50	1	12/28/2009 4:14:10 AM	tesis000061.D	SUPVAS4-15MIN
56	Vial 51	1	12/28/2009 4:47:24 AM	tesis000062.D	SUPVAS5-15MIN
57	Vial 52	1	12/28/2009 5:20:38 AM	tesis000063.D	SUPVAS6-15MIN
58	Vial 53	1	12/28/2009 5:53:52 AM	tesis000064.D	SUPVAS7-15MIN
59	Vial 54	1	12/28/2009 6:27:08 AM	tesis000065.D	SUPVAS8-15MIN
60	Vial 55	1	12/28/2009 7:00:20 AM	tesis000066.D	SUPVAS9-15MIN
61	Vial 56	1	12/28/2009 7:33:34 AM	tesis000067.D	SUPVAS10-15MIN
62	Vial 57	1	12/28/2009 8:06:49 AM	tesis000068.D	SUPVAS11-15MIN
63	Vial 58	1	12/28/2009 8:40:04 AM	tesis000069.D	SUPVAS12-15MIN
64	Vial 59	1	12/28/2009 9:13:18 AM	tesis000070.D	SUPVAS1-30MIN
65	Vial 60	1	12/28/2009 9:46:33 AM	tesis000071.D	SUPVAS2-30MIN
66	Vial 61	1	12/28/2009 10:19:47 AM	tesis000072.D	SUPVAS3-30MIN
67	Vial 62	1	12/28/2009 10:53:01 AM	tesis000073.D	SUPVAS4-30MIN
68	Vial 63	1	12/28/2009 11:26:16 AM	tesis000074.D	SUPVAS5-30MIN
69	Vial 64	1	12/28/2009 11:59:31 AM	tesis000075.D	SUPVAS6-30MIN

Run #	Location	Inj #	Inj. Date/Time	File Name	Sample Name
70	Vial 65	1	12/28/2009 12:32:45 PM	tesis000076.D	SUPVAS7-30MIN
71	Vial 66	1	12/28/2009 1:05:59 PM	tesis000077.D	SUPVAS8-30MIN
72	Vial 67	1	12/28/2009 1:39:15 PM	tesis000078.D	SUPVAS9-30MIN
73	Vial 68	1	12/28/2009 2:12:29 PM	tesis000079.D	SUPVAS10-30MIN
74	Vial 69	1	12/28/2009 2:45:43 PM	tesis000080.D	SUPVAS11-30MIN
75	Vial 70	1	12/28/2009 3:18:58 PM	tesis000081.D	SUPVAS12-30MIN
76	Vial 71	1	12/28/2009 3:52:15 PM	tesis000082.D	SUPVAS1-45MIN
77	Vial 72	1	12/28/2009 4:25:32 PM	tesis000083.D	SUPVAS2-45MIN
78	Vial 73	1	12/28/2009 4:58:44 PM	tesis000084.D	SUPVAS3-45MIN
79	Vial 74	1	12/28/2009 5:31:55 PM	tesis000085.D	SUPVAS4-45MIN
80	Vial 75	1	12/28/2009 6:05:13 PM	tesis000086.D	SUPVAS5-45MIN
81	Vial 76	1	12/28/2009 6:38:28 PM	tesis000087.D	SUPVAS6-45MIN
82	Vial 77	1	12/28/2009 7:11:44 PM	tesis000088.D	SUPVAS7-45MIN
83	Vial 78	1	12/28/2009 7:44:59 PM	tesis000089.D	SUPVAS8-45MIN
84	Vial 79	1	12/28/2009 8:18:16 PM	tesis000090.D	SUPVAS9-45MIN
85	Vial 80	1	12/28/2009 8:51:31 PM	tesis000091.D	SUPVAS10-45MIN
86	Vial 81	1	12/28/2009 9:24:47 PM	tesis000092.D	SUPVAS11-45MIN
87	Vial 82	1	12/28/2009 9:58:04 PM	tesis000093.D	SUPVAS12-45MIN

Compound: ciclosporina (Signal: DAD1 A, Sig=210,4 Ref=360,100)

Run #	Type	RetTime [min]	Amount [%]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Width [min]	Symm.
16	BBA	19.208	92.29581	4444.61768	42.09469	1.5978	0.88
17	BBA	19.205	75.16582	3619.70215	34.15283	1.3685	0.85
18	BBA	19.200	89.05546	4288.57471	40.47644	1.5261	0.87
19	BBA	19.194	62.94329	3031.11084	28.62590	1.4253	0.85
20	BBA	19.180	90.52558	4359.37012	41.32297	1.4748	0.87
21	BBA	19.172	82.28961	3962.75684	37.60624	1.4694	0.88
22	BBA	19.149	91.89367	4425.25195	41.96724	1.3902	0.85
23	BBA	19.133	84.69527	4078.60425	38.98286	1.4666	0.86
24	BBA	19.114	85.61440	4122.86621	39.44395	1.4335	0.84
25	BBA	19.105	71.26939	3432.06470	32.81157	1.4563	0.84
26	BBA	19.096	87.38559	4208.15967	40.44805	1.4358	0.83
27	BBA	19.084	87.30299	4204.18213	40.39310	1.5203	0.84
28	BBA	19.074	93.88228	4521.01611	43.55151	1.4791	0.84
29	BBA	19.069	90.21489	4344.40820	42.04672	1.3934	0.86
30	BBA	19.040	88.39369	4256.70605	41.23690	1.4443	0.81
31	BBA	19.048	83.83069	4036.96924	39.15926	1.4947	0.84
32	BBA	19.029	92.33349	4446.43213	43.47054	1.4953	0.84
33	BBA	19.025	89.94451	4331.38770	42.23741	1.4744	0.83
34	BBA	19.002	92.71369	4464.74121	44.43321	1.4783	0.84
35	BBA	19.008	89.73745	4321.41650	42.59254	1.3957	0.83
36	BBA	19.011	91.55350	4408.87061	43.55637	1.4529	0.85
37	BBA	18.999	89.73457	4321.27783	42.72086	1.4961	0.84
38	BBA	18.994	91.81010	4421.22754	43.70955	1.4541	0.84
39	BBA	18.996	92.80094	4468.94287	44.15455	1.4288	0.84
40	BBA	18.984	91.22469	4393.03662	43.37492	1.4816	0.83
41	BBA	18.979	91.70414	4416.12500	43.63463	1.4467	0.84
42	BBA	18.950	91.11555	4387.78076	43.16844	1.4858	0.79
43	BBA	18.967	91.73920	4417.81348	43.81588	1.4543	0.84
44	BBA	18.952	90.22967	4345.12012	43.22903	1.5027	0.82
45	BBA	18.947	91.91862	4426.45361	44.33452	1.4688	0.84
46	BBA	18.941	93.16404	4486.42822	44.90617	1.4856	0.83
47	BBA	18.931	88.86516	4279.41064	43.05827	1.4575	0.83
48	BBA	18.918	90.48270	4357.30518	43.82623	1.4479	0.82
49	BBA	18.910	89.25054	4297.96875	43.30818	1.4318	0.81
50	BBA	18.907	90.52487	4359.33594	43.90419	1.4644	0.82
51	BBA	18.912	90.42208	4354.38574	43.88124	1.4117	0.83
53	BB	18.953	13.91372	670.03229	6.68765	1.1789	0.92

Run #	Type	RetTime [min]	Amount [%]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Width [min]	Symm.
60	BB	18.879	19.22793	925.94434	9.18044	1.1827	0.81
64	BBA	18.835	25.52817	1229.34009	12.73908	1.1379	0.82
65	BB	18.826	43.41866	2090.87842	21.75428	1.1573	0.81
66	BB	18.828	31.17530	1501.28491	15.46957	1.1762	0.80
67	BB	18.845	29.19132	1405.74390	14.76243	1.1270	0.87
68	BB	18.798	29.79509	1434.81921	14.79986	1.1391	0.78
69	BB	18.798	25.17228	1212.20178	12.82160	1.1330	0.84
70	BB	18.799	40.32219	1941.76440	20.48584	1.1618	0.84
71	BBA	18.786	28.47348	1371.17517	14.27467	1.1667	0.79
72	BB	18.797	37.65267	1813.21033	19.11951	1.1624	0.85
73	BB	18.739	27.49337	1323.97693	14.12887	1.1173	0.77
74	BB	18.765	29.22285	1407.26221	15.06979	1.1795	0.80
75	BB	18.770	28.71969	1383.03162	14.76690	1.1427	0.82
76	BB	18.740	28.98058	1395.59534	15.01772	1.0922	0.82
77	BB	18.756	33.67694	1621.75439	17.62703	1.1494	0.88

Mean: 18.968 70.19216 3380.18917 33.35273 1.3653 0.84
S.D.: 0.137 28.17799 1356.94539 12.90637 0.1497 0.03
RSD : 0.722 40.14407 40.14407 38.69658 10.9659 3.21
95% CI: 0.038 7.84480 377.77595 3.59315 0.0417 7e-3

S a m p l e S u m m a r y

Sequence table: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2009-12-26 15-18-14\TESIS.S
Data directory path: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2009-12-26 15-18-14\TESIS.S
Logbook: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2009-12-26 15-18-14\TESIS.LOG
Sequence start: 12/26/2009 10:20:00 PM
Statistic report on calibration runs: 1
Statistic report on sample runs: 2
Operator: CCA
Method file name: C:\CHEM32\1\DATA\CICLOSPORINA\TESIS 2009-12-26 15-18-14\CICLOSPORINA.M

Run Location Inj	Sample Name	Sample Amt	Multip.*	Dilution	File name	Cal #	Page
#	#	[%]				Cmp	
1 Vial 1	1 ST1	-	1.0000	tesis000007.D	*	1	-
2 Vial 1	1 ST1	-	1.0000	tesis000008.D	*	1	-
3 Vial 1	1 ST1	-	1.0000	tesis000009.D	*	1	-
4 Vial 1	1 ST1	-	1.0000	tesis000010.D	*	1	-
5 Vial 1	1 ST1	-	1.0000	tesis000011.D	*	1	-
6 Vial 2	1 ST2	-	1.0000	tesis000012.D	*	1	-
7 Vial 2	1 ST2	-	1.0000	tesis000013.D	*	1	-
8 Vial 2	1 ST2	-	1.0000	tesis000014.D	*	1	-
9 Vial 2	1 ST2	-	1.0000	tesis000015.D	*	1	-
10 Vial 2	1 ST2	-	1.0000	tesis000016.D	*	1	-
11 Vial 3	1 ST3	-	1.0000	tesis000017.D	*	1	-
12 Vial 3	1 ST3	-	1.0000	tesis000018.D	*	1	-
13 Vial 3	1 ST3	-	1.0000	tesis000019.D	*	1	-
14 Vial 3	1 ST3	-	1.0000	tesis000020.D	*	1	-
15 Vial 3	1 ST3	-	1.0000	tesis000021.D	*	1	-
16 Vial 11	1 NEOVAS1-15MIN	-	2.000e3	tesis000022.D	1	1	-
17 Vial 12	1 NEOVAS2-15MIN	-	2.000e3	tesis000023.D	1	1	-
18 Vial 13	1 NEOVAS3-15MIN	-	2.000e3	tesis000024.D	1	1	-
19 Vial 14	1 NEOVAS4-15MIN	-	2.000e3	tesis000025.D	1	1	-
20 Vial 15	1 NEOVAS5-15MIN	-	2.000e3	tesis000026.D	1	1	-
21 Vial 16	1 NEOVAS6-15MIN	-	2.000e3	tesis000027.D	1	1	-
22 Vial 17	1 NEOVAS7-15MIN	-	2.000e3	tesis000028.D	1	1	-
23 Vial 18	1 NEOVAS8-15MIN	-	2.000e3	tesis000029.D	1	1	-
24 Vial 19	1 NEOVAS9-15MIN	-	2.000e3	tesis000030.D	1	1	-
25 Vial 20	1 NEOVAS10-15MIN	-	2.000e3	tesis000031.D	1	1	-
26 Vial 21	1 NEOVAS11-15MIN	-	2.000e3	tesis000032.D	1	1	-
27 Vial 22	1 NEOVAS12-15MIN	-	2.000e3	tesis000033.D	1	1	-
28 Vial 23	1 NEOVAS1-30MIN	-	2.000e3	tesis000034.D	1	1	-
29 Vial 24	1 NEOVAS2-30MIN	-	2.000e3	tesis000035.D	1	1	-
30 Vial 25	1 NEOVAS3-30MIN	-	2.000e3	tesis000036.D	1	1	-
31 Vial 26	1 NEOVAS4-30MIN	-	2.000e3	tesis000037.D	1	1	-
32 Vial 27	1 NEOVAS5-30MIN	-	2.000e3	tesis000038.D	1	1	-
33 Vial 28	1 NEOVAS6-30MIN	-	2.000e3	tesis000039.D	1	1	-
34 Vial 29	1 NEOVAS7-30MIN	-	2.000e3	tesis000040.D	1	1	-
35 Vial 30	1 NEOVAS8-30MIN	-	2.000e3	tesis000041.D	1	1	-
36 Vial 31	1 NEOVAS9-30MIN	-	2.000e3	tesis000042.D	1	1	-
37 Vial 32	1 NEOVAS10-30MIN	-	2.000e3	tesis000043.D	1	1	-
38 Vial 33	1 NEOVAS11-30MIN	-	2.000e3	tesis000044.D	1	1	-
39 Vial 34	1 NEOVAS12-30MIN	-	2.000e3	tesis000045.D	1	1	-
40 Vial 35	1 NEOVAS1-45MIN	-	2.000e3	tesis000046.D	1	1	-
41 Vial 36	1 NEOVAS2-45MIN	-	2.000e3	tesis000047.D	1	1	-
42 Vial 37	1 NEOVAS3-45MIN	-	2.000e3	tesis000048.D	1	1	-
43 Vial 38	1 NEOVAS4-45MIN	-	2.000e3	tesis000049.D	1	1	-
44 Vial 39	1 NEOVAS5-45MIN	-	2.000e3	tesis000050.D	1	1	-
45 Vial 40	1 NEOVAS6-45MIN	-	2.000e3	tesis000051.D	1	1	-
46 Vial 41	1 NEOVAS7-45MIN	-	2.000e3	tesis000052.D	1	1	-
47 Vial 42	1 NEOVAS8-45MIN	-	2.000e3	tesis000053.D	1	1	-
48 Vial 43	1 NEOVAS9-45MIN	-	2.000e3	tesis000054.D	1	1	-
49 Vial 44	1 NEOVAS10-45MIN	-	2.000e3	tesis000055.D	1	1	-

Run Location Inj	Sample Name	Sample Amt	Multip.*	Dilution	File name	Cal #	Page
#	#	[%]				Cmp	
50 Vial 45	1 NEOVAS11-45MIN	-	2.000e3	tesis000056.D	1	1	-
51 Vial 46	1 NEOVAS12-45MIN	-	2.000e3	tesis000057.D	1	1	-
52 Vial 47	1 SUPVAS1-15MIN	-	2.000e3	tesis000058.D	0	0	-
53 Vial 48	1 SUPVAS2-15MIN	-	2.000e3	tesis000059.D	1	1	-
54 Vial 49	1 SUPVAS3-15MIN	-	2.000e3	tesis000060.D	0	0	-
55 Vial 50	1 SUPVAS4-15MIN	-	2.000e3	tesis000061.D	0	0	-
56 Vial 51	1 SUPVAS5-15MIN	-	2.000e3	tesis000062.D	0	0	-
57 Vial 52	1 SUPVAS6-15MIN	-	2.000e3	tesis000063.D	0	0	-
58 Vial 53	1 SUPVAS7-15MIN	-	2.000e3	tesis000064.D	0	0	-
59 Vial 54	1 SUPVAS8-15MIN	-	2.000e3	tesis000065.D	0	0	-
60 Vial 55	1 SUPVAS9-15MIN	-	2.000e3	tesis000066.D	1	1	-
61 Vial 56	1 SUPVAS10-15MIN	-	2.000e3	tesis000067.D	0	0	-
62 Vial 57	1 SUPVAS11-15MIN	-	2.000e3	tesis000068.D	0	0	-
63 Vial 58	1 SUPVAS12-15MIN	-	2.000e3	tesis000069.D	0	0	-
64 Vial 59	1 SUPVAS1-30MIN	-	2.000e3	tesis000070.D	1	1	-
65 Vial 60	1 SUPVAS2-30MIN	-	2.000e3	tesis000071.D	1	1	-
66 Vial 61	1 SUPVAS3-30MIN	-	2.000e3	tesis000072.D	1	1	-
67 Vial 62	1 SUPVAS4-30MIN	-	2.000e3	tesis000073.D	1	1	-
68 Vial 63	1 SUPVAS5-30MIN	-	2.000e3	tesis000074.D	1	1	-
69 Vial 64	1 SUPVAS6-30MIN	-	2.000e3	tesis000075.D	1	1	-
70 Vial 65	1 SUPVAS7-30MIN	-	2.000e3	tesis000076.D	1	1	-
71 Vial 66	1 SUPVAS8-30MIN	-	2.000e3	tesis000077.D	1	1	-
72 Vial 67	1 SUPVAS9-30MIN	-	2.000e3	tesis000078.D	1	1	-
73 Vial 68	1 SUPVAS10-30MIN	-	2.000e3	tesis000079.D	1	1	-
74 Vial 69	1 SUPVAS11-30MIN	-	2.000e3	tesis000080.D	1	1	-
75 Vial 70	1 SUPVAS12-30MIN	-	2.000e3	tesis000081.D	1	1	-
76 Vial 71	1 SUPVAS1-45MIN	-	2.000e3	tesis000082.D	1	1	-
77 Vial 72	1 SUPVAS2-45MIN	-	2.000e3	tesis000083.D	1	1	-
78 Vial 73	1 SUPVAS3-45MIN	-	2.000e3	tesis000084.D	0	0	-
79 Vial 74	1 SUPVAS4-45MIN	-	2.000e3	tesis000085.D	0	0	-
80 Vial 75	1 SUPVAS5-45MIN	-	2.000e3	tesis000086.D	0	0	-
81 Vial 76	1 SUPVAS6-45MIN	-	2.000e3	tesis000087.D	0	0	-
82 Vial 77	1 SUPVAS7-45MIN	-	2.000e3	tesis000088.D	0	0	-
83 Vial 78	1 SUPVAS8-45MIN	-	2.000e3	tesis000089.D	0	0	-
84 Vial 79	1 SUPVAS9-45MIN	-	2.000e3	tesis000090.D	0	0	-
85 Vial 80	1 SUPVAS10-45MIN	-	2.000e3	tesis000091.D	0	0	-
86 Vial 81	1 SUPVAS11-45MIN	-	2.000e3	tesis000092.D	0	0	-
87 Vial 82	1 SUPVAS12-45MIN	-	2.000e3	tesis000093.D	0	0	-

